

## ASPECTOS REPRODUCTIVOS DEL TIBURÓN MARTILLO *SPHYRNA CORONA* EN EL PACÍFICO COLOMBIANO

**María Alejandra Orozco Guarín**

*Universidad del Valle, Departamento de Biología.*

*Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.*

*correo electrónico: maria.orozco.guarin@correounivalle.edu.co*

**Paola Andrea Mejía Falla**

*Fundación colombiana para la investigación y conservación de tiburones y rayas, SQUALUS.*

*Carrera 60A No 11-39, Cali, Colombia*

*correo electrónico: pmejia@squalus.org*

**Edgardo Londoño-Cruz**

*Universidad del Valle, Departamento de Biología, Grupo de Investigación en Ecosistemas rocosos intermareales y submareales someros, LITOS.*

*Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia.*

*correo electrónico: edgardo.londono@correounivalle.edu.co*

### RESUMEN

Se evaluaron aspectos reproductivos de *Sphyrna corona* a partir de 283 individuos (156 hembras y 114 machos) provenientes de faenas de pesca artesanal e industrial en el Pacífico colombiano. Las hembras alcanzaron tallas (Lt) y pesos (119,5 cm; 0,94 Kg) mayores que los machos (111,5 cm; 0,68 Kg). Las hembras alcanzan la madurez al 46,4% de la longitud total máxima y presentan una talla mediana de madurez (Lt50) de 56,9 cm Lt. Los machos alcanzan la madurez al 51,8% de la Lt máxima y presentan un Lt50 de 57,6 cm Lt. En hembras maduras se observaron paquetes de esperma en las glándulas oviducal y en hembras preñadas se observaron compartimientos uterinos y la tercera membrana. En los machos se evidenció el proceso de espermatogénesis en los testículos, así como agrupaciones de esperma en el epidídimo y conducto deferente. Se plantea, de manera preliminar, que la fecundación e inicio de la gestación ocurre en los primeros meses del año y los nacimientos al final de año, un periodo de gestación de 8 a 10 meses y una talla de nacimiento entre 22 y 23 cm Lt. Los resultados de este estudio, el primero para la especie, indican que *S. corona* presenta características de historia de vida intermedias en el continuo r-k, al ser comparado con otros sphyrnidos; sin embargo, se recomienda fortalecer y realizar otros estudios poblacionales que aporten insumos para evaluar la vulnerabilidad de la especie a presiones antrópicas como la pesca.

*Palabras claves: Sphyrnidae, escala de madurez, histología, estructura reproductiva, talla mediana de madurez.*

### ABSTRACT

Reproductive aspects of *Sphyrna corona* were studied from 283 individuals (156 females and 114 males) from artisanal and industrial fishery in the Colombian Pacific Ocean. Females reached sizes (TL) and weights (119.5 cm; 0.94 Kg) higher than males (111.5 cm; 0.68 Kg). Females reach maturity at 46.4% of the maximum total length and present a median size at maturity (TL50) at 56.9 cm TL. Males reach maturity at 51.8% of maximum TL and present a TL50 at 57.6 cm TL. Sperm packages were found in the oviducal glands of mature females, and uterine compartments and third membrane were found in pregnant females. In males, the process of spermatogenesis was evidenced in the testes and the sperm storage was observed in the epididymis and vas deferens. This study preliminarily suggest that the fertilization and early pregnancy occurs in the early months of the year and births at the end of the year, the gestation period is about 8-10 months and the size of birth is between 22 and 23 cm TL. The results of this study, the first for the species, indicate that *S. corona* has intermediate life history characteristics in a r-k continuous, when compared with other sphyrnids; however, it is recommended to strengthen and develop other population studies to provide inputs for assessing the vulnerability of the species to anthropogenic pressures such as fishing.

*Key Words: Sphyrnides, maturity stages, histology, reproductive structure, media sizes maturity.*

## INTRODUCCIÓN

La familia Sphyrnidae incluye dos géneros (*Sphyrna* y *Eusphyrna*) y 9 especies descritas de tiburones martillos, los cuales habitan en mares templados y tropicales del mundo (Compagno 1999). Las hembras preñadas y los neonatos de estas especies se encuentran en las zonas costeras, mientras que los adultos (machos y hembras) prefieren ambientes pelágicos (Clarke 1971; Branstetter 1987; Holland *et al.* 1993).

Los tiburones martillo presentan viviparidad placentaria, madurez sexual tardía y sus crías nacen con tallas grandes. La fecundidad varía dependiendo de la especie, siendo algunas muy fecundas (*p.e.* *S. mokarran*, hasta 44 crías) y otras con fecundidad intermedia (*p.e.* *S. tiburo*, 14-34 embriones; Parsons 1993; Tapiero 1997; Torres-Huerta 2008).

En Colombia, el género *Sphyrna* está representado por seis especies confirmadas: *S. tudes*, *S. lewini*, *S. tiburo*, *S. media*, *S. mokarran* y *S. corona* (Mejía-Falla *et al.* 2007, Hleap *et al.* 2011). *S. corona* es la especie de menor talla (hasta 92 cm de longitud total), con crías que nacen con tallas de alrededor de 23 cm de longitud total; los machos maduran a aproximadamente 67 cm de longitud total (Compagno 1984). Esta especie se distribuye en el Pacífico Oriental Tropical, desde el Golfo de California hasta Perú, y presenta hábitos costeros y bento-pelágicos, hasta 100 m de profundidad (Compagno 1984). *S. corona* es capturada en faenas de pesca industrial y artesanal, presenta importancia local y nacional debido al consumo de su carne y a la comercialización del aceite de hígado, e importancia internacional debido a la comercialización de las aletas (Hleap *et al.* 2011). Es una especie catalogada como Casi Amenazada por la IUCN (Mycock 2003) y de Importancia Media en el Plan de Acción Nacional para la conservación y manejo de tiburones, rayas y quimeras de Colombia (Caldas *et al.* 2010). Pese a lo anterior, poco se conoce respecto a sus características de historia de vida y no existe ningún estudio enfocado a evaluar los aspectos reproductivos de la especie, insumos importantes y necesarios para el análisis cuantitativo y de vulnerabilidad de las poblaciones (Walker 2004). Este estudio, por tanto, tuvo como objetivo describir, a partir de análisis histológicos y macroscópicos, las escalas de madurez de hembras y machos de *S. corona*, y estimar parámetros reproductivos para cada sexo.

## MÉTODOS

### Colecta de muestras

Las muestras fueron colectadas entre noviembre de 2012 y febrero de 2014 (exceptuando mayo a julio de 2013 y enero 2014) a partir de desembarcos de pesca industrial y artesanal en la ciudad de Buenaventura, principal puerto del Pacífico colombiano. Los individuos fueron sexados, medidos en su longitud total, ( $L_t$ , cm), pesados ( $W$ , g) y eviscerados. A los machos se les midió la longitud interna del clasper ( $L_c$ , cm) y se les definió el grado de calcificación (no calcificado  $N_c$ , parcialmente calcificado  $P_c$ , calcificado  $C$ ). Las estructuras reproductivas fueron extraídas y conservadas en formol al 10%.

### Tallas de captura, relación longitud total-peso y proporción sexual

Se evaluaron diferencias de tallas entre sexos mediante una prueba U de Mann-Whitney. Se evaluó la relación longitud total ( $L_t$ ) -peso ( $W$ ) para cada sexo mediante la relación exponencial  $W = a \cdot L_t^b$ , donde  $a$  y  $b$  son parámetros del modelo; y diferencias en dicha relación entre sexos fueron evaluadas mediante una ANCOVA. La proporción de sexos encontrada tanto para adultos como para embriones se contrastó contra los valores esperados utilizando una prueba de Chi-cuadrado con un nivel de significancia del 95%.

### Análisis macroscópicos de las estructuras reproductivas

Se midió el ancho de cada órgano reproductivo tanto de las hembras (úteros, oviductos, glándulas oviducuales y ovario) como de los machos (testículos, conductos deferentes y vesículas seminales). Los embriones fueron contados, sexados, pesados y medidos en su  $L_t$  y los folículos ováricos fueron contados y el más grande fue medido en su diámetro.

Se tomaron descripciones cualitativas (coloración, forma y consistencia) de cada estructura reproductiva, con miras a generar una descripción detallada del sistema reproductor de hembras y machos, y se asignó un índice a cada una de ellas, dependiendo del desarrollo o condición reproductiva en que se encontraba la misma, siguiendo lo establecido por Walker (2005), con las modificaciones de Mejía-Falla *et al.* (2012). En hembras, el índice del útero se basó en la apariencia, tamaño y presencia o ausencia de

embriones en el mismo ( $U = 1-5$ ), el índice del oviducto anterior en su grosor ( $OA = 1-3$ ), el índice del ovario en la presencia y tamaño de los folículos ( $O = 1-4$ ) y el índice de la glándula oviducal en la forma y el tamaño de la misma ( $G = 1-3$ ). En machos, el índice del testículo se basó en la forma, tamaño y predominio de tejido testicular ( $T = 1-3$ ), el índice del epidídimo en su forma y textura ( $E=1-3$ ), el índice del conducto deferente en su forma y tamaño ( $C= 1-4$ ), y el índice de la vesícula seminal en la apariencia, grosor y presencia o ausencia de líquido seminal ( $V = 1-4$ ).

A partir de las observaciones de todas las estructuras en su conjunto, de los índices definidos para cada estructura y de las mediciones de los órganos reproductivos, se definió la escala macroscópica de madurez para la especie, tomándose como referencia los estados descritos por Walker (2005) y Mejía-Falla *et al.* (2012), incluyendo modificaciones para la especie.

### **Análisis histológicos de las estructuras reproductivas**

Una vez establecidos los estados de madurez a nivel macroscópico, se realizaron cortes transversales y longitudinales a cada una de las estructuras reproductivas de 64 individuos (31 hembras y 33 machos). Para ello, las muestras fueron fijadas en formalina neutra al 10%, deshidratadas en una serie ascendente de etanol, aclaradas con xilol e incluidas en parafina, siguiendo el protocolo de Bancroft & Gamble (2008). Los cortes se realizaron a 5 y 8  $\mu\text{m}$  de espesor en la porción media de cada órgano y se tiñeron con hematoxilina-eosina de Harris. Se tomaron fotografías microscópicas a cada una de las estructuras reproductivas de hembras y machos en cada estado previamente establecido. Se realizaron las observaciones correspondientes y, tomando como referencia lo descrito por Engel & Callard (2005), Lutton *et al.* (2005), Hamlett *et al.* (2005) y Jones *et al.* (2005), se llevaron a cabo las descripciones de cada estructura y se definió la escala de madurez microscópica para la especie.

### **Análisis de datos**

#### **Talla mínima y mediana de madurez**

Diferencias en el ancho de las estructuras de cada lado del tracto reproductivo (derecho e izquierdo) se evaluaron mediante pruebas pareadas de Wilcoxon.

Para establecer el inicio de la madurez, se consideró el individuo inmaduro más grande y el maduro más pequeño. La talla mediana de madurez ( $Lt_{50}$ ), o bien la talla a la cual el 50% de los individuos están maduros (Liu *et al.* 1999; Joung & Chen 1995), se estimó para cada sexo, a partir de los estadios definidos en la escala de madurez, convertidos a una escala binomial ( $0=\text{inmaduro}$ ,  $1=\text{maduro}$ ), y se evaluó mediante el modelo de regresión logística binomial:

$$Y = \frac{1}{1 + e^{-b(Lt_i - Lt_{50})}}$$

donde  $Y$  es la proporción de individuos maduros a la  $Lt$ ,  $Lt_i$  es la talla a la clase  $i$  y  $b$  es un parámetro del modelo. La talla mediana de madurez se estimó así mismo considerando los índices definidos para cada estructura reproductiva de hembras (Tabla 1) y machos (Tabla 2), convertidos a una escala binomial.

Adicionalmente, se evaluó la relación entre la longitud total y el ancho de las estructuras reproductivas de hembras (útero y glándula oviducal) y de machos (testículos, conductos deferentes y vesícula seminal), considerando los índices previamente definidos para cada estructura, así como la relación entre la longitud total y la longitud del clasper de los machos. Para ello, se usó una ecuación logística modificada (Piner *et al.* 2005) siguiendo a Mejía-Falla *et al.* (2012), la cual genera un punto de inflexión ( $\alpha$ ) a partir de los valores mínimos ( $L_{min}$ ) y máximos ( $L_{max}$ ) de la estructura evaluada, siendo  $L_i$  el ancho de la estructura en la clase  $i$ ,  $b$  un parámetro del modelo, y  $Lt_i$  la longitud total del individuo en la clase  $i$ , mediante la ecuación:

$$L_i = l_{min} + (l_{max} - l_{min})[1 + e^{b(a-Lt_i)}]^{-1}$$

### **Variación temporal de estados de madurez y de estados de desarrollo**

Los embriones y folículos ováricos fueron evaluados de manera descriptiva, dado el bajo número de hembras preñadas y en etapa de ovulación. Se evaluó la variación mensual de los estados de madurez (escala 1 a 5) y de desarrollo (embriones, neonatos, juveniles, adultos, hembras preñadas) de los individuos de *S. corona*, con miras a inferir sobre los meses de mayor actividad reproductiva para ambos sexos. Los estados de desarrollo fueron definidos a partir de caracteres como la cicatriz umbilical, calcificación del clasper, y

Lt, considerando neonatos aquellos que presentaran cicatriz umbilical abierta, juveniles aquellos que no tuvieran evidencia de cicatriz y sus clasper estuvieran no calcificados o parcialmente calcificados, y adultos aquellos que estuvieran por encima de la talla mediana de madurez, en el caso de los machos, que el clasper estuviera totalmente calcificado. Adicionalmente, se calculó la talla de nacimiento comparando el embrión más grande con el neonato más pequeño capturado.

## RESULTADOS

### Tallas de captura, relación longitud total-peso y proporción sexual

Se capturaron en total 283 individuos de *S. corona* (156 hembras, 114 machos y 13 indeterminados), indicando una proporción sexual H:M de 1:1 ( $X^2 = 0,01$ ,  $df = 1$ ,  $p > 0,08$ ). Las hembras se capturaron entre 30 y 119,5 cm Lt (promedio  $\pm$  SD =  $67,9 \pm 21,3$ ) y los machos entre 23 y 111,5 cm Lt ( $58,1 \pm 5,1$ ), siendo las hembras significativamente más grandes que los machos ( $Z = -3.6322$ ,  $gl=1$ ,  $p = 0,0002$ ). La relación Lt-peso para hembras y machos fue significativamente diferente (ANCOVA,  $F_{2,40}=775,33$ ,  $p < 0,001$ ); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el peso de las hembras ( $0,94$  kg SD  $\pm 0,86$ ) y los machos ( $0,68$  kg SD  $\pm 0,45$ ;  $Z = 0,5343$ ,  $gl=1$ ,  $p > 0,06$ ).

### Escala de madurez: observaciones macroscópicas

A partir de las observaciones macroscópicas de los sistemas reproductivos de 64 individuos (31 hembras y 33 machos), se propuso la escala macroscópica de madurez, tanto para hembras (Tabla 1) como para machos (Tabla 2) de la especie.

Las hembras inmaduras (Estado I) de *S. corona* presentan ovarios poco desarrollados y difíciles de diferenciar a simple vista, así como glándulas oviducuales muy pequeñas; en hembras en maduración (Estado II) estas glándulas presentan un leve ensanchamiento (diámetro entre 0,3 y 0,5 cm), el cual permite una fácil diferenciación del oviducto. En hembras maduras (Estados III, IV y V), solo se observó el ovario derecho, con presencia de folículos de diferentes tamaños, siendo más grandes (diámetro entre 0,6 y 1,9 cm) en hembras preñadas (Estado IV) y en postparto (Estado V), aunque en estos estados se presentan también folículos atrésicos. Las glándulas oviducuales presentan forma de corazón, y fueron de

mayor tamaño en hembras preñadas (Estado IV; Índice 3; Fig. 1a, Tabla 1). El útero de las hembras inmaduras y en maduración (Estado I y II) se observa como una estructura tubular muy delgada (ancho entre 0,08 y 0,3 cm). En las hembras maduras, se hace evidente el ensanchamiento de la misma, así como el engrosamiento de sus paredes y un aumento en la vascularización; el útero comienza a aumentar su tamaño considerablemente en las hembras en estado III (Índice 3, Fig. 1b, Tabla 1). Y en hembras preñadas (Estado IV) es posible encontrar los huevos y embriones en compartimientos uterinos cubiertos por una membrana.

En los machos inmaduros (Estado I) y en maduración (Estado II), el clasper se encuentra no calcificado o parcialmente calcificado y sin presencia de fluido seminal (Índices 1 y 2, Fig. 1c); los testículos son muy pequeños y poco desarrollados (ancho de 0,2 a 0,6 cm, promedio 0,36; Fig. 1d) al igual que los conductos deferentes que son delgados y poco desarrollados (ancho 0,2 a 1 cm, promedio 0,43, Índice 1, Fig. 1e). Por su parte, en machos maduros (Estado III, IV y V), los testículos son tubulares y lobulados y aumentan de tamaño (ancho 0,4 a 0,7 cm, promedio 0,6), mientras los conductos deferentes se engrosan y alargan (ancho 0,5 a 1,4 cm, promedio 0,84; Índices 2, 3 y 4; Fig. 1f). En el caso de las vesículas seminales, éstas aumentan lentamente su ancho (Fig. 1e), aunque el cambio más notorio entre machos inmaduros y en maduración (Estado I-II) y los machos maduros (Estados III- V) es el enrollamiento que ésta presenta y la presencia de fluido seminal (Estado IV-V).

### Escala de madurez: análisis microscópicos

A partir de los análisis histológicos de las estructuras reproductivas de 31 hembras y 33 machos, se planteó una escala microscópica de madurez para hembras (Tabla 1) y machos (Tabla 2) de la especie.

Los ovarios de *S. corona* están compuestos por el epitelio germinal, la túnica albugínea y el estroma (córtez y médula; Fig. 2a). El epitelio germinal es una capa simple de células cúbicas que recubre todo el ovario; la túnica albugínea es una capa de tejido conectivo denso. Por debajo se encuentra el córtex o zona cortical, la cual es una capa de tejido conectivo vascularizado que contiene los folículos ováricos; finalmente se encuentra la médula, formada por tejido

**Tabla 1.** Escala de madurez de hembras de *Sphyrna corona*, definida a partir de las observaciones macroscópicas y microscópicas de cada estructura reproductiva. B = estado o condición en escala binomial.

Estado de madurez (B)	Estructura	Descripción macroscópica	Descripción microscópica	Condición (B)
I. Inmaduro (0)	Ovario	No se diferencia a simple vista.	Presencia de folículos primordiales y primarios ubicados cerca del epitelio germinal.	1 (0)
	Oviducto anterior	Filamento delgado, estrecho y flácido, no se diferencia del útero.	Epitelio con pliegues ligeros y su lámina propia reducida. Capa muscular delgada. Capa adventicia gruesa.	1(0)
	Glándula oviducal	Poco visible, no se diferencia del oviducto.	Solo se distingue un tipo de células epiteliales.	1(0)
	Útero	Estructura muy estrecha, no desarrollada, con paredes delgadas y flácidas.	Epitelio cilíndrico simple con citoplasma vacuolado, con pliegues pequeños. Rodeado por dos capas musculares ( interna disposición circular, externa disposición longitudinal)	1(0)
II. En maduración virgen (0)	Ovario	Muy pequeños y sin folículos.	Presencia de folículos primordiales, primarios y ovocitos previtelogénicos.	2(0)
	Oviducto anterior	Filamento delgado, estrecho y flácido, no se diferencia del útero.	Epitelio con pliegues cortos y lámina propia de mayor grosor. Capa muscular delgada y capa adventicia gruesa.	1(0)
	Glándula oviducal	Presenta un leve ensanchamiento que permite diferenciarla del oviducto.	No se diferencian zonas dentro del tejido.	2(0)
	Útero	Estructura tubular ligeramente ensanchada, con paredes flácidas y un poco gruesas.	Epitelio cilíndrico simple. Mayor diferenciación celular y vacuolas en el citoplasma de algunas células. Con pliegues más elongados. Capa muscular incrementa en grosor.	2(0)
III. Madura no preñada (1)	Ovario	Con folículos hialinos de diversos tamaños.	Presencia de folículos primordiales, primarios, ovocitos previtelogénicos, ovocitos vitelogénicos y atrésicos.	3(1)
	Oviducto anterior	Tienen mayor tamaño.	Epitelio con pliegues largos, lámina propia engrosada y vascularizada. Capa muscular delgada; capa adventicia gruesa.	2(0)
	Glándula oviducal	Agrandada, con forma de corazón.	Se observan zonas con diferentes tipos de células y puede haber secreciones en el lumen de los túbulos glandulares.	3(1)

IV. Madura preñada (1)	Útero	Estructura tubular alargada, con mayor ensanchamiento en que zona media, levemente estrecho en la zona anterior. Paredes desarrolladas y mayor vascularización.	Epitelio pseudoestratificado con mayor vascularización en la lámina propia. Endometrio presenta pliegues extensos. Capa muscular aumenta más su grosor.	3(1)
	Ovario	Con presencia de folículos de varios tamaños, algunos atrésicos.	Presencia de cuerpos lúteos y ovocitos atrésicos, además de todos los otros tipos de folículos.	4(1)
	Oviducto anterior	Bien diferenciados, rígidos y de paredes gruesas.	Epitelio con proyecciones largas, lámina propia engrosada y vascularizada. Capa muscular delgada y capa adventicia gruesa.	3(1)
	Glándula oviducal	Agrandada, en forma de corazón.	Se observan zonas con diferentes tipos de células y puede observarse presencia de espermatozoides almacenados en el lumen de algunos túbulos.	3(1)
	Útero	Estructura muy ensanchada y vascularizada con paredes delgadas, presencia de embriones o de huevos fertilizados en compartimientos uterinos.	Lámina propia sufre angiogénesis, se adelgaza el epitelio formando una capa de células cúbicas. Se observan linfocitos, granulocitos y macrófagos en el lumen uterino.	4(1)
V. Madura postparto (1)	Ovario	Con presencia de folículos de varios tamaños, abundancia de atrésicos.	Presencia de cuerpos lúteos y ovocitos atrésicos, además de todos los otros tipos de folículos	4(1)
	Oviducto anterior	Bien diferenciados, rígidos y de paredes gruesas.	Epitelio con proyecciones largas, lámina propia engrosada y vascularizada. Capa muscular delgada y capa adventicia gruesa.	3(1)
	Glándula oviducal	Agrandada, en forma de corazón.	Se aprecia reducción del epitelio glandular y del tamaño de las lamelas.	3(1)
	Útero	Estructura distendida, con paredes engrosadas, sin presencia de embriones.	Lámina propia sufre angiogénesis, se adelgaza el epitelio formando una capa de células cúbicas. Se observan linfocitos, granulocitos y macrófagos en el lumen uterino.	5(1)

**Tabla 2.** Escala de madurez de machos de *Sphyrna corona*, definida a partir de las observaciones macroscópicas y microscópicas de cada estructura reproductiva. B = estado o condición en escala binomial.

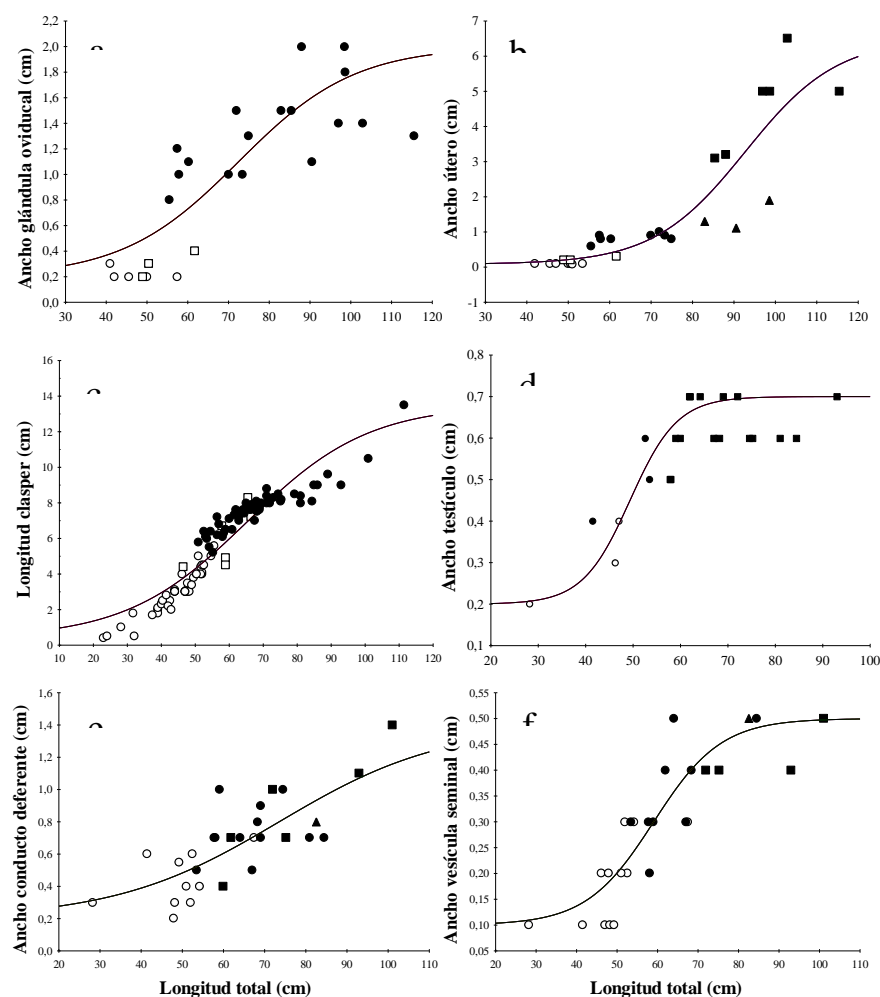
Estado de madurez (B)	Estructura	Descripción macroscópica	Descripción microscópica	Condición (B)
I. Inmaduro (0)	Testículo	No diferencia a simple vista.	Presencia de espermatogónia I y células de Sertoli en la zona germinal. Tejido homogéneo, sin diferenciación tubular ni lumen	1 (0)
	Epidídimo	No se diferencia a simple vista.	Epitelio pseudoestratificado con escasas vellosidades y sin pliegues de la mucosa.	1(0)
	Conducto deferente	Muy delgado y flácido, sin presencia de la glándula de Leydig.	Conducto delgado con epitelio pseudoestratificado cilíndrico con vellosidades, que reposa sobre una delgada lámina basal, rodeada por una delgada capa circular de músculo liso. Sin pliegues en la mucosa.	1(0)
	Vesícula seminal	Muy delgada y translúcida, poco enrollada, fluido seminal ausente	Túbulos revestidos por un epitelio cúbico con núcleos basales rodeados de una delgada capa de tejido muscular liso.	1(0)
II. En maduración virgen (0)	Testículo	Estructura tubular un poco engrosada, de textura gelatinosa y sin lóbulos prominentes.	Predominan espermatogonias I y II .Se observan espermatoцитos primarios en etapas iniciales.	2(0)
	Epidídimo	No se diferencia a simple vista.	Epitelio pseudoestratificado forma pliegues moderados hacia el lumen.	1(0)
	Conducto deferente	Estructura tubular delgada.	Mayor desarrollo de la capa muscular y pliegues pequeños de epitelio pseudoestratificado.	1(0)
	Vesícula seminal	Ligeramente alargada y enrollada, fluido seminal ausente	Túbulos revestidos por un epitelio cúbico con núcleos basales rodeados de una delgada capa de tejido muscular liso.	1(0)
III. Maduro no reproductivo (1)	Testículo	De textura firme, engrosados y con lóbulos.	Presencia de todos los estados de la espermatogénesis y abundantes espermatozoides en túbulos y conductos.	3(1)
	Epidídimo	Engrosado, con consistencia granulosa.	El epitelio pseudoestratificado emite pliegues grandes hacia el interior del lumen y se observan cilios en la superficie apical de las células epiteliales.	2(1)

IV. Maduro actividad sexual (1)	Conducto deferente	Estructura tubular ligeramente engrosada y larga, consistencia grumosa.	Conducto muy visible, con pared muscular gruesa, formada por una capa de tejido muscular liso longitudinal y otra circular. El epitelio pseudoestratificado forma grandes pliegues hacia la luz del conducto	2(1)
	Vesícula seminal	Enrollada, con paredes gruesas, fluido seminal ausente	El epitelio se torna cilíndrico, la capa de tejido muscular liso es más visible.	2(1)
	Testículo	Contextura firme, engrosado y con lóbulos.	Presencia de todos los estados de la espermatogénesis y abundantes espermatozoides en túbulos y conductos.	3(1)
	Epidídimo	Se diferencia la cabeza y cuerpo, consistencia granulosa	El epitelio pseudoestratificado emite pliegues grandes hacia el interior del lumen y se observan cilios en la superficie apical de las células epiteliales. Se observa gran cantidad de espermatozoides en el lumen.	3(1)
V. Maduro post actividad sexual (1)	Conducto deferente	Estructura tubular engrosada y más larga, consistencia grumosa.	Pared muscular gruesa formada por una capa de tejido muscular liso longitudinal y otra circular. Epitelio pseudoestratificado forma grandes pliegues hacia la luz del conducto y se observan espermatozoides	3(1)
	Vesícula seminal	Muy enrollada, con paredes gruesas; fluido seminal presente.	El epitelio cilíndrico en algunos túbulos está reducido y se observa secreción en el lumen.	3(1)
	Testículos	Contextura firme, engrosado y con lóbulos.	Túbulos vacíos producto de la evacuación de los espermatozoides dentro de los ductos intratesticulares.	3(1)
	Epidídimo	Se diferencia la cabeza y el cuerpo, consistencia granulosa.	Presencia de todos los estados de la espermatogénesis, pero no se observan espermatozoides en los conductos	3(1)
	Conducto deferente	Estructura tubular delgada, y flácida.	Pueden observarse escasos espermatozoides pero el tubo muestra apariencia vacía.	4(1)
	Vesícula seminal	Poco enrollada, muy flácidas; fluido seminal ausente o poco.	El epitelio cilíndrico en algunos túbulos está reducido y se observa secreción en el lumen.	4(1)

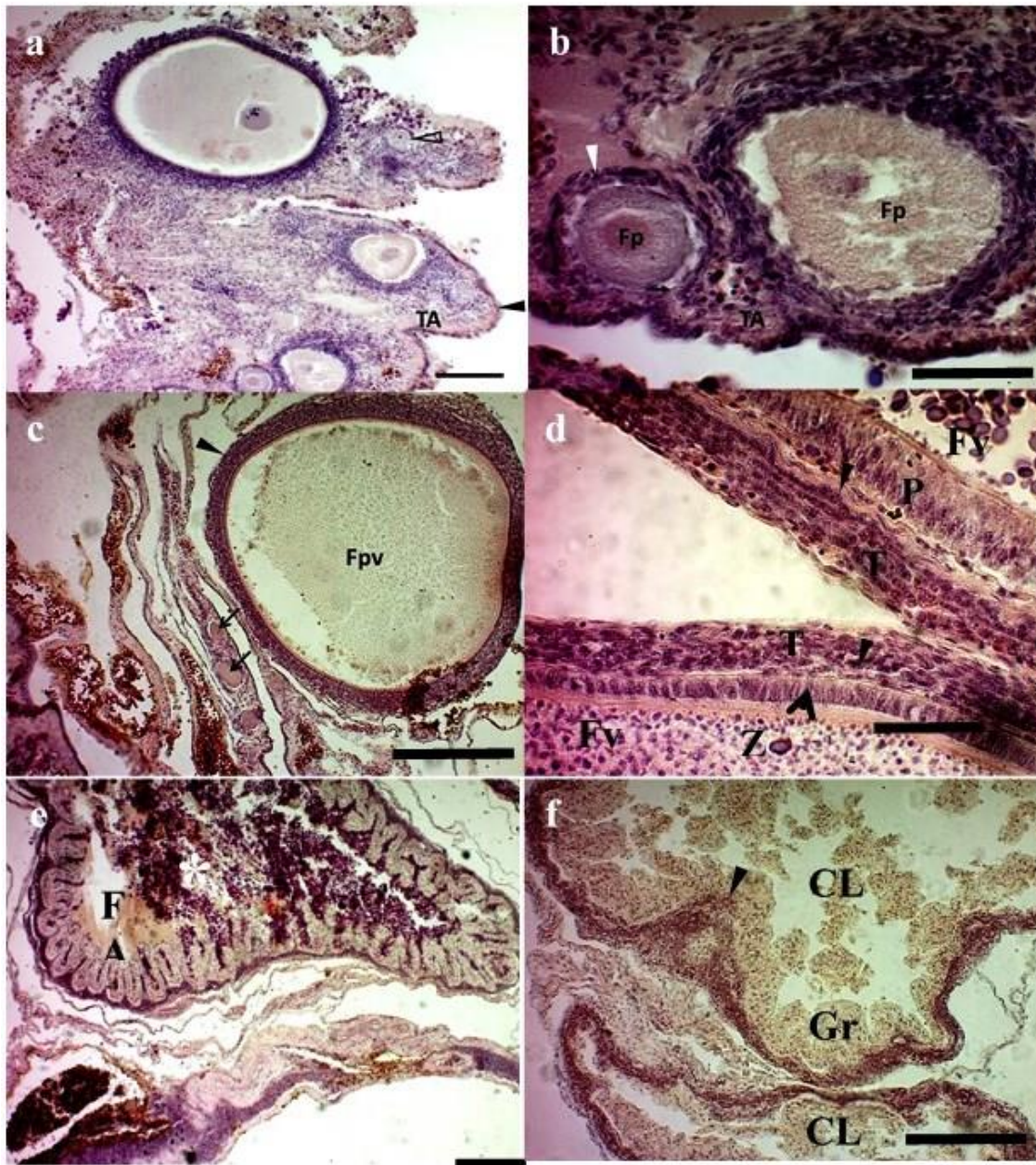


conectivo fibroelástico que contiene numerosos vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios. En hembras inmaduras se observan folículos primordiales y primarios (Fig. 2b). En hembras en maduración, se observan además, folículos previtelogénicos (Fig. 2c). En la medida que se incrementa el tamaño de los folículos, estos se alejan del epitelio germinal. En hembras maduras, además de los folículos ya descritos, también se observan folículos vitelogénicos (Fig. 2d) y atrésicos (Fig. 2e) en diferentes grados de desarrollo. En hembras preñadas y postparto se observan cuerpos lúteos, que se caracterizan por el plegamiento de la capa granulosa y la teca interna, formados por un epitelio cilíndrico de color pálido y citoplasma granular (Fig. 2f).

El oviducto de *S. corona* es un conducto formado por tres capas de tejidos, el epitelio y su lámina propia, la capa muscular y la adventicia, los cuales muestran características diferentes a medida que las hembras maduran. El epitelio del oviducto es pseudoestratificado cilíndrico con cilios, pero varían sus pliegues hacia el lumen desde casi imperceptibles en hembras inmaduras, hasta pliegues largos que pueden reducir considerablemente la luz del oviducto en las hembras maduras. La lámina propia sufre engrosamiento y vascularización a medida que la maduración avanza, pero la capa muscular, delgada, y la adventicia, gruesa, no sufren grandes modificaciones.



**Figura 1.** Relación entre la Lt con **a)** ancho de glándula oviducal por condición reproductiva (1-3); **b)** ancho de útero por condición reproductiva (1-5); **c)** longitud de clasper por grado de calcificación: no calcificado, parcialmente calcificado y calcificado; **d)** ancho del testículo por condición reproductiva (1-3). **e)** ancho del conducto deferente por condición reproductiva (1-4); y **f)** ancho vesícula seminal por condición reproductiva (1-4).



**Figura 2.** Ovario de hembra de *Sphyrna corona* en diferentes estados de desarrollo. **a)** Epitelio germinal (cabeza de flecha sólida), túnica albugínea (TA) y cortex con ovocitos (cabeza de flecha hueca). **b)** Ovario inmaduro, con folículos de crecimiento primario (FP) muy cercanos a la túnica albugínea (TA). **c)** Ovario en maduración, con folículo previtelogénico (Fpv) de gran tamaño comparado con los folículos primarios (flechas) y con una pared folicular gruesa y organizada (cabeza de flecha). **d)** Ovario maduro, con folículos vitelogénicos (Fv) en diferentes grados de desarrollo la teca (T), capa vascularizada, descansa sobre la membrana basal (cabeza de flecha negra) la pared folicular (PF) está formada por células cilíndricas y por la zona pelúcida (ZP); vaso sanguíneo (cabeza de flecha blanca). **e)** Ovario maduro, con folículo vitelogénico atrésico (FA) con epitelio folicular plegado e invaginado hacia el interior del folículo y gránulos de vitelo (\*). **f)** Cuerpo lúteo (CL) en el ovario de una hembra preñada; el epitelio folicular y la teca se observan plegados e invaginados hacia el interior del folículo (cabeza de flecha); la capa granulosa (Gr) muestra un aspecto pálido y citoplasma granular. Escala: a) 300  $\mu$ m. b) 50  $\mu$ m. c) 200  $\mu$ m. d) 50  $\mu$ m. e) 300  $\mu$ m. f) 200  $\mu$ m.

La glándula oviducal está formada por un sistema de túbulos revestidos por un epitelio secretor y soportado por un tejido conectivo muy vascularizado, que en la porción anterior forma lamelas transversales (Fig. 3a). El epitelio está formado por células con núcleo apical y superficie ciliada, y células secretoras de núcleo basal. En hembras inmaduras y en maduración solo se diferencia un tipo de células epiteliales. En hembras maduras se observan zonas con diferentes tipos de células y puede haber secreciones en el lumen de los túbulos glandulares. En hembras preñadas se observan algunos túbulos con células de aspecto pálido, y ubicadas en la porción posterior de la glándula, muy cerca de la adventicia, los cuales contienen grupos de espermatozoides almacenados para la fecundación (Fig. 3b). En hembras postparto se aprecia una reducción del epitelio glandular y del tamaño de las lamelas (Tabla 1).

El útero de *S. corona* es un órgano tubular compuesto por un epitelio y su lámina propia, una capa muscular y la adventicia. En hembras inmaduras el epitelio es cilíndrico simple, con células de citoplasma vacuolado y se organiza sobre la lámina propia, formando pliegues muy pequeños. Está rodeado por capas musculares bien definidas pero poco espesas, una interna en disposición circular y otra externa longitudinal; por fuera de éstas, se sitúa la adventicia, o bien la envoltura de tejido conectivo que reviste al útero (Fig. 3c). En hembras en maduración, el epitelio es cilíndrico simple con mayor diferenciación de vacuolas en el citoplasma, los pliegues son más elongados y la capa muscular aumenta su grosor (Fig. 3d). En las hembras maduras, el endometrio forma pliegues extensos, el epitelio se torna pseudoestratificado con mayor vascularización en la lámina propia, y la capa muscular continúa aumentando de grosor. Cuando la hembra está preñada o en postparto, la lámina propia de los pliegues epiteliales sufre un proceso de angiogénesis y el epitelio se adelgaza formando una capa de células cúbicas (Fig. 3e).

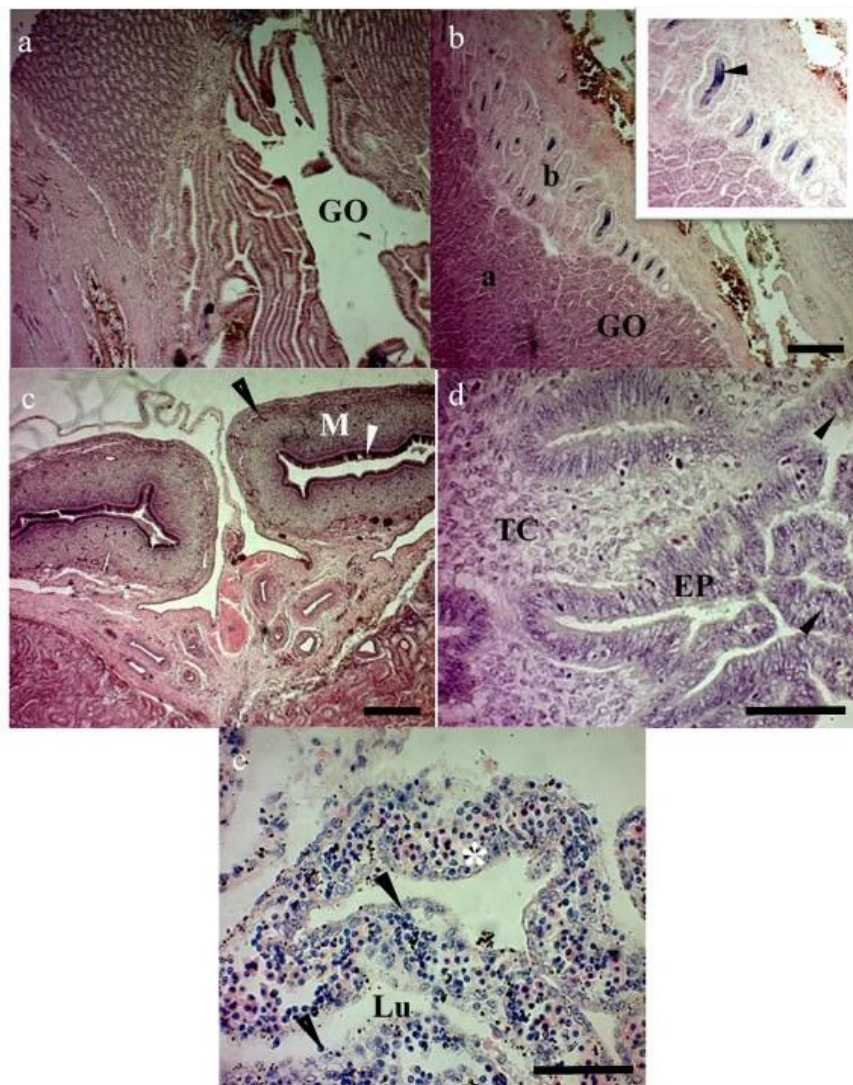
En los machos de *S. corona* los testículos muestran un desarrollo diametral de las células germinales (Fig. 4a), desde la zona germinal, ubicada en la porción ventral, hacia los conductos deferentes ubicados dorsalmente. En este trayecto, las células germinales pasan por diferentes fases de desarrollo: gonocito, espermatogonia, espermatocito, espermátide y espermatozoo.

Se observaron ocho estadios de espermatogénesis: (1) espermatogonias I, (2) espermatogonias II, (3) espermatocito I, (4) espermatocito II, (5) espermátide, (6) espermatozoide inmaduro, (7) espermatozoide maduro y (8) túbulo degenerativo. En el estadio 1, las espermatogonias primarias se encuentran rodeadas por células de Sertoli en la zona germinal. En el estadio 2, las espermatogonias secundarias se observan agrupadas dentro del túbulo, delineado por una membrana basal. Las células de Sertoli comienzan a migrar hacia la membrana basal (Fig. 4b). En el estadio 3, se observa la cromatina agregada irregularmente en el núcleo del espermatocito primario y las células de Sertoli completan su migración. En el estadio 4, se observan espermatocitos secundarios, caracterizados por el pequeño tamaño de sus núcleos (Fig. 4c). En el estadio 5 las espermátides pasan a tener una forma alargada. En el estadio 6 se observan los túbulos con espermatozoides, inmaduros aún, con su porción cefálica en dirección a la membrana basal. El estadio 7 se caracteriza por la presencia de agrupaciones densas de espermatozoides maduros y listos para su liberación en los ductos intratesticulares (Fig. 4d). En el estadio 8 se observan túbulos vacíos, producto de la evacuación de los espermatozoides dentro de los ductos intratesticulares, diferentes procesos de degeneración y reabsorción (Fig. 4e). Sin embargo, también se observaron algunos túbulos degenerados que liberan los espermatozoides maduros al intersticio, lo que causa desorganización del tejido y colapso del túbulo con infiltración leucocítica (Fig. 4f).

En machos inmaduros solo se observaron espermatogonias primarias. En machos en maduración predominan las espermatogonias primarias y secundarias y espermatocitos I en etapas iniciales, y pueden observarse algunas espermátides en los túbulos del testículo (Fig. 5a). En machos maduros, se observan todos los estadios de espermatogénesis y abundantes espermatozoides en los túbulos testiculares y en los conductos (Fig. 5b).

Los conductos intratesticulares constituyen una red para la colecta y emisión de los espermatozoides, las ramas distales se pueden observar entre los túbulos en diferentes estadios de desarrollo y estrechamente relacionados con estos (Fig. 5c). Estas ramas distales convergen para formar un conducto deferente que se conecta al epidídimo y están formadas por una capa





**Figura 3.** Glándula oviducal y útero de hembras de *Sphyrna corona*. **a)** Glándula oviducal (GO) con tejido glandular seccionado transversalmente (\*) y lamelas (La) en la porción anterior de la glándula. **b)** GO con dos zonas de tejido glandular (a y b) bien diferenciadas en el lumen de los túbulos de la zona b se observan espermatozoides (cabeza de flecha) almacenados. **c)** Útero inmaduro. Epitelio cilíndrico (cabeza de flecha sólida) sin pliegues, las capas musculares (M) y la adventicia (cabeza de flecha hueca). **d)** Útero en maduración. Epitelio cilíndrico (EP) con elongaciones y algunas vacuolas (cabeza de flecha) y tejido conectivo (TC). **e)** Útero maduro. El epitelio uterino se muestra muy elongado, formado por células cúbicas (cabeza de flecha) y muy vascularizado; en el lumen (Lu) se puede observar descamación celular (Cabeza de flecha hueca) y eritrocitos (\*). Escala: a) 300  $\mu$ m. b) 300  $\mu$ m. c) 300  $\mu$ m. d) 50  $\mu$ m. e) 50  $\mu$ m.

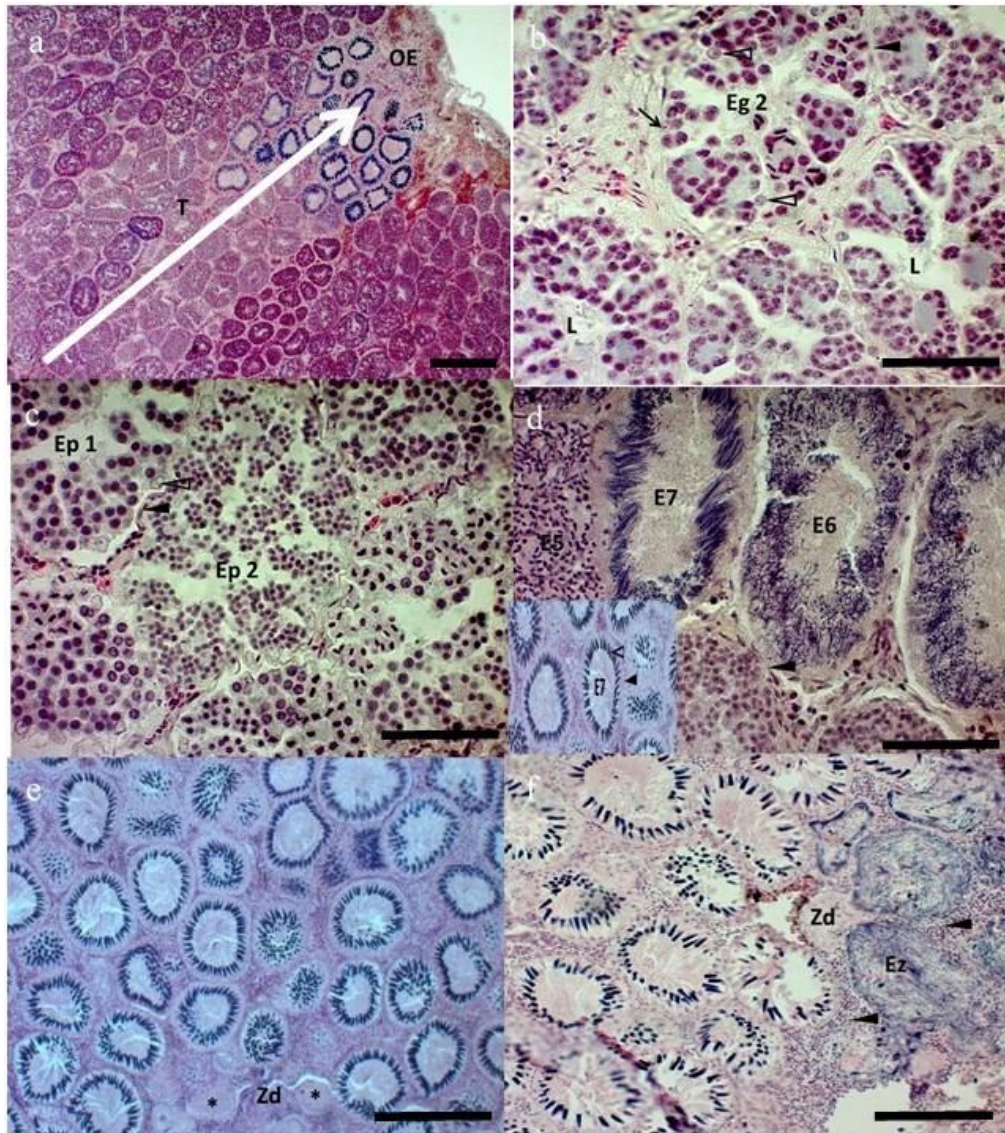
simple de células cúbicas (Fig. 5d). En las ramas principales y el conducto deferente este epitelio cúbico cambia a epitelio columnar con cilios en el borde luminal.

El epidídimo está compuesto por epitelio pseudoestratificado columnar, el cual va reduciendo su espesor hacia la parte posterior del órgano en la misma

medida que se incrementa la capa muscular que lo rodea. En machos inmaduros el epidídimo tiene un epitelio con escasas vellosidades y con pliegues de la mucosa. En machos en maduración el epitelio forma pliegues moderados hacia el lumen. En machos maduros el epitelio forma pliegues grandes hacia el interior del lumen y se observan cilios en la superficie apical de las células epiteliales (Fig. 5e). En machos

activos se observa una gran cantidad de espermatozoides en el lumen, y en aquellos machos post actividad ya no se observan espermatozoides.

El conducto deferente está compuesto por un epitelio pseudoestratificado con proyecciones digitiformes hacia la luz del conducto, que reposa en una gruesa



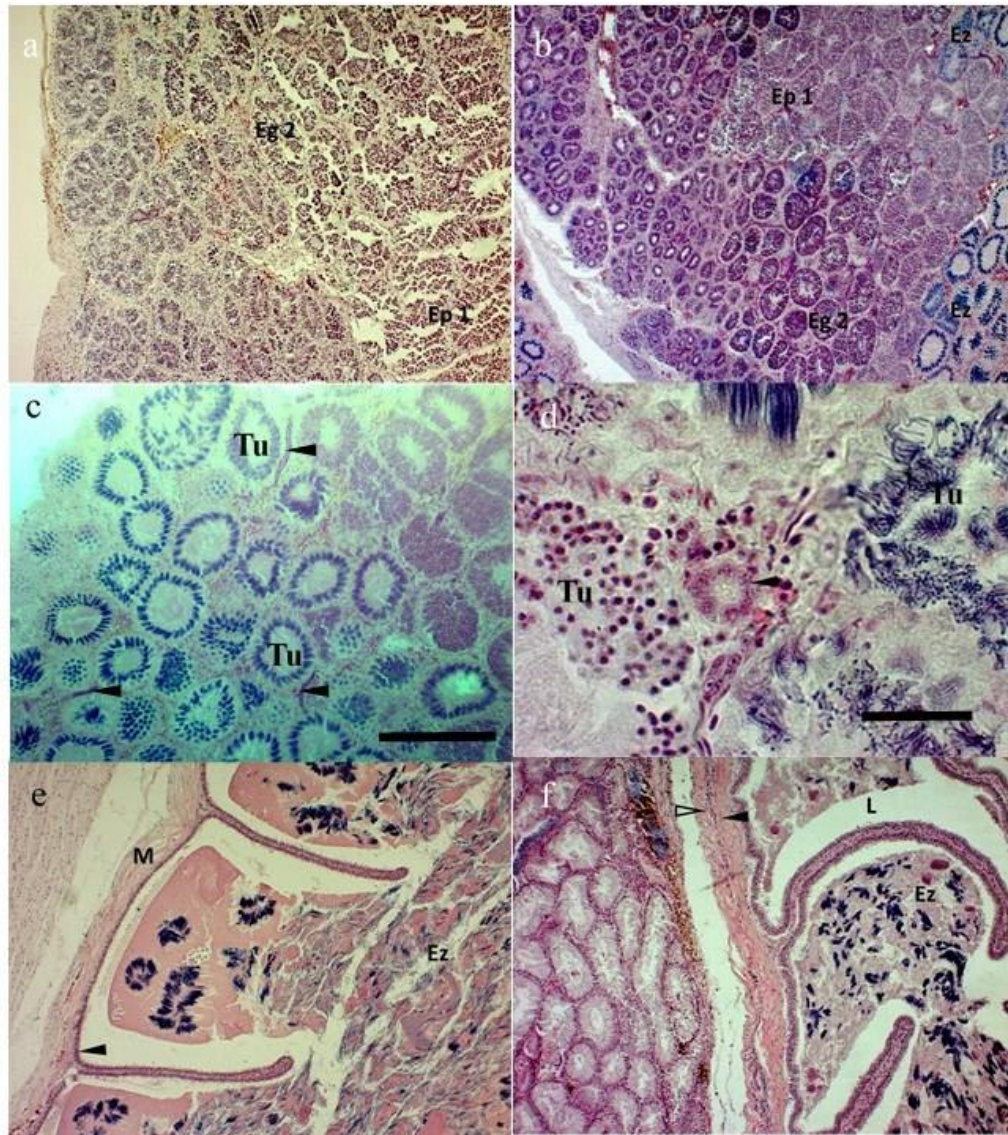
**Figura 4.** Testículo de *Sphyrna corona*. **a)** Desarrollo diametral de los gametos (Flecha) y órgano epigonal (OE). **b)** Testículo en maduración. Espermatogonias secundarias (Eg 2) organizadas dentro del túbulo, el cual es delineado por la membrana basal (cabeza de flecha sólida); las células de Sertoli han comenzado su proceso de migración (cabeza de flecha hueca); lumen (L). **c)** Testículo en maduración. Espermatocitos primarios (Ep 1) y secundarios (Ep 2) organizadas dentro de los túbulos, los cuales están delineados por la membrana basal (cabeza de flecha sólida); las células de Sertoli han completado su proceso de migración (cabeza de flecha hueca). **d)** Testículo en maduro. Espermatocitos en estadios 5, 6 y 7 (E5, E6, E7) organizados dentro de los túbulos, los cuales están delineados por la membrana basal (cabeza de flecha sólida). **e)** Testículo maduro. Espermatozoides maduros agrupados dentro de los túbulos y la zona de degeneración (Zd) con túbulos degenerados (\*). **f)** Testículo maduro. Zona de degeneración (Zd) espermatozoides maduros (Ez) liberados en el intersticio tubular, lo que genera desorganización e infiltrado leucocítico (cabezas de flechas). Escala a) 300  $\mu$ m. b) 50  $\mu$ m. c) 50  $\mu$ m. d) 50  $\mu$ m. e) 100  $\mu$ m. f) 200  $\mu$ m.



capa muscular (Fig. 5f). En machos inmaduros el conducto es muy delgado, con vellosidades y su capa muscular es muy delgada y sin pliegues en la mucosa. En machos en maduración, el conducto tiene un mayor desarrollo de la capa muscular y presenta pequeños pliegues. En machos maduros la capa muscular es gruesa, formada por una capa de tejido muscular liso

longitudinal y otra circular; el epitelio presenta grandes pliegues hacia la luz del conducto. En los machos que se encuentran en actividad sexual, se logran observar espermatozoides.

La vesícula seminal es un tubo revestido por un epitelio cúbico, rodeado por una capa muscular. En individuos inmaduros y en maduración, la vesícula tiene un



**Figura 5.** Testículo y epidídimo de *Sphyrna corona*. **a)** Testículos en maduración, espermatogonias secundarias (Eg 2) y espermatocitos primarios (Ep 1) fundamentalmente. **b)** Testículos en maduración, diferentes estadios de la espermatogénesis. Espermatogonias secundarias (Eg 2), espermatocitos primarios (Ep 1), espermatozoides (Ez). **c)** Ducto intratesticular (cabeza de flecha) con su epitelio simple cúbico entre los túbulos con espermatozoides (Tu). **d)** Ducto intratesticular (cabeza de flecha) con su epitelio simple cúbico entre los túbulos con espermatozoides (Tu). **e)** Epidídimo maduro, abundantes espermatozoides maduros (Ez) en la luz (L) y entre las proyecciones digitiformes. **f)** Epidídimo maduro, espermatozoides maduros (Ez) en la luz (L) y entre las proyecciones digitiformes (Pd). Se observan las capas musculares interna (cabeza de flecha sólida) y externa (cabeza de flecha hueca) y el epitelio pseudoestratificado. Escala a) 300  $\mu$ m. b) 300  $\mu$ m. c) 200  $\mu$ m. d) 200  $\mu$ m. e) 200  $\mu$ m. f) 200  $\mu$ m.

epitelio cúbico con núcleos basales rodeados por una delgada capa de tejido muscular liso. En machos maduros, el epitelio se torna cilíndrico y la capa de tejido muscular liso se hace más visible; en machos con actividad sexual y post actividad se observa los túbulos reducidos y secreciones en el lumen.

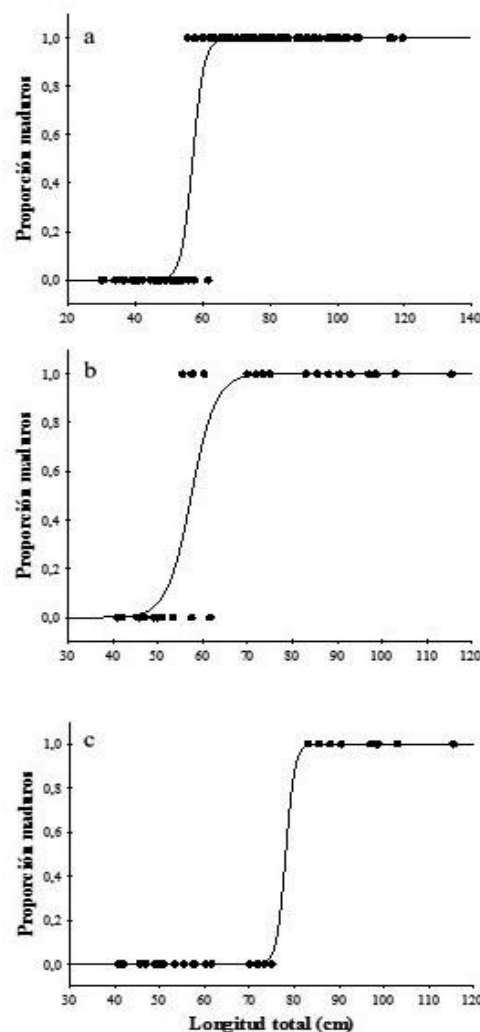
### Talla mínima y mediana de madurez

Las hembras de *S. corona* presentan un solo ovario funcional (derecho), mientras que los úteros, glándulas oviducuales y oviductos son ambos funcionales, sin presentar diferencias en su ancho entre ambos lados (derecho e izquierdo) del tracto reproductivo ( $Z = 0,6205$ , d.f. = 26;  $Z = 0,2130$ , d.f. = 24 y  $Z = 0,7701$ , d.f. = 27;  $p > 0,05$  para todos los casos). La hembra madura más pequeña midió 55,5 cm Lt y se encontró en estado de madurez III, con útero en condición 3, mientras que la hembra inmadura más grande midió 61,7 cm Lt se encontró en estado de madurez II y útero en condición 2.

La talla mediana de madurez (Lt50) de las hembras se estimó en 56,9 cm (95% CI = 56,85- 56,95; Fig. 6a) y fue muy similar a la Lt50 calculada a partir de las ojivas basadas en la condición de los úteros, de las glándulas oviducuales y de los ovarios (57,43 cm Lt; 95% CI = 57,38- 57,48, en todos los casos; Fig. 6b), pero fue menor de aquella estimada a partir de la condición del oviducto (79,08 cm; 95% CI = 79,03- 79,13; Fig. 6c).

Estos valores obtenidos de ojivas basadas en la condición de las estructuras de las hembras fueron mucho más bajos que los puntos de inflexión encontrados en la relación logística de la Lt y el ancho de la glándula (72,48 cm Lt; Fig. 1a) y del útero (92,78 cm Lt; Fig. 1b), mientras el oviducto presentó valores similares a los de la ojiva basada en la condición del mismo (75,57 cm Lt).

Respecto a los machos, se encontraron diferencias entre el ancho del testículo izquierdo y derecho ( $Z = 2,935$ , d.f. = 20  $p = 0,003$ ), mientras que los conductos y vesículas no presentaron diferencias ( $Z = 1,822$ , d.f. = 28,  $p = 0,06$  y  $Z = 1,54$ , d.f. = 27,  $p = 0,12$ , respectivamente). El macho maduro más pequeño midió 57,8 cm Lt y se encontró en estado III y condición testículo 3, mientras el macho inmaduro más



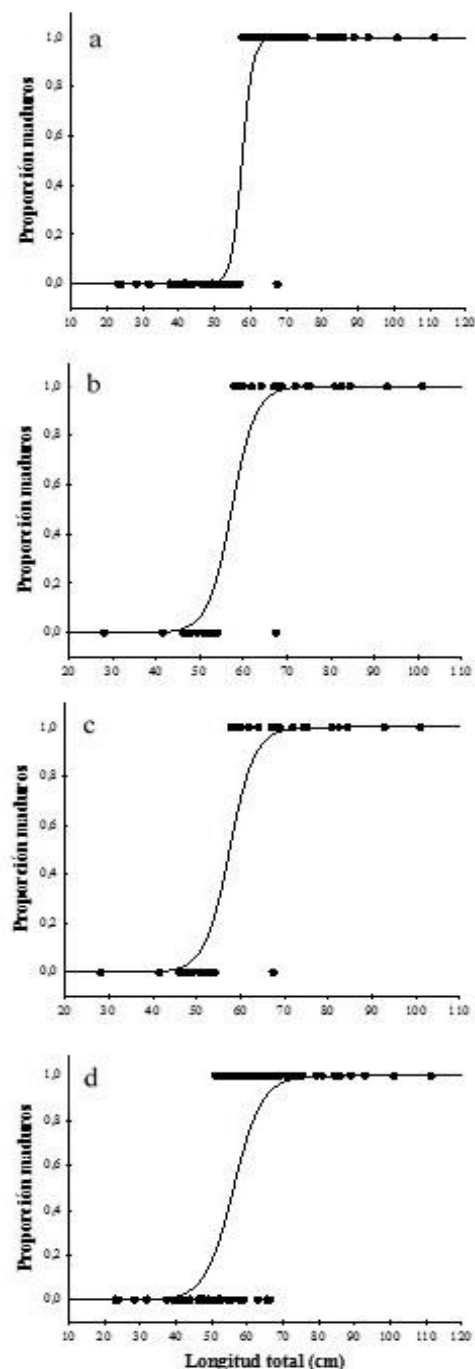
**Figura 6.** Ojiva de madurez de hembras de *Sphyrna corona* basadas en **a)** Estados de madurez. **b)** condición del útero **c)** condición del oviducto.

grande midió 67,5 cm Lt y se encontró en estado de madurez II.

La talla mediana de madurez (Lt50) de los machos basada en la escala de madurez fue estimada en 57,63 cm (95% CI = 57,58-57,68; Fig. 7a), valor similar al obtenido a partir de la condición del testículos y el conducto (57,29 cm; 95% CI = 57,24-57,34 en ambos casos; Fig. 7b), de la condición de la vesícula (57,52cm, 95% CI = 57,47-57,57; Fig. 7c) y condición del clasper (56,11 cm, 95% CI = 56,06-56,16; Fig. 7d).

La relación logística de Lt con la longitud del clasper (Lc) indicó un punto de inflexión de 65,3 cm (95% CI= 65,2-65,4) a una longitud de clasper de 6,8 cm (Fig.

1c); valor ligeramente menor al obtenido con el ancho del conducto (73,53 cm Lt; Fig. 1d) y más alto al obtenido a partir del ancho de la vesícula seminal (59,05 cm Lt; Fig. 1e).



**Figura 7.** Ojiva de madurez de machos de *Sphyrna corona* basadas en **a)** estados de madurez, **b)** condición del testículo, **c)** condición de la vesícula seminal **d)** condición del clasper.

### Variación temporal de estados de madurez y de estados de desarrollo

Solo se capturaron seis hembras en estado IV, dos de las cuales tenían embriones y las otras cuatro presentaron huevos fertilizados en el útero. Una hembra preñada (103 cm Lt), capturada en septiembre, presentó 13 embriones (6 hembras y 7 machos) con tallas entre 18,7 y 21,8 (promedio  $\pm$  20,6 y SD = 0,87). La otra hembra preñada (115 cm de Lt) capturada en marzo, presentó 27 embriones (15 hembras y 12 machos) con tallas entre 3,8 y 7,0 (promedio  $\pm$  5,6, SD = 0,74). Para ambos casos, la proporción H:M fue 1:1 ( $X^2 = 0,75$ ,  $p > 0,05$ ). Las cuatro hembras que presentaron huevos fertilizados fueron capturadas en los meses de enero, marzo y abril. Las dos hembras más grandes (98,7 y 97,0 cm Lt) presentaron en promedio 10 huevos por útero, seguido de una hembra de 88 cm Lt que presentó en promedio 4 huevos por útero, y finalmente una hembra de 85,5 cm Lt que presentó en promedio 7,5 huevos por útero. Los datos de estas hembras preñadas, aunque pocos, permiten sugerir que la fecundidad de la especie es variable y podría estar entre 8 y 27 embriones por hembra.

Se encontraron gran cantidad de folículos (entre 10 a 200 por ovario) en diferentes estado de desarrollo en los ovarios de 14 hembras en estado III, IV y V, con diámetros entre 0,1 a 1,9 cm. En enero, abril, septiembre y noviembre se encontraron las hembras con folículos de mayor diámetro (1,9; 1,7; 1,7 y 1,8 cm respectivamente). La hembra que presento el folículo de menor diámetro (0,1 cm) se capturó en el mes de diciembre; mientras en el mes de agosto estuvieron ausentes las hembras con folículos ováricos. La talla de nacimiento se estimó entre 22 a 23 cm de Lt y un 18% de la Lt máxima.

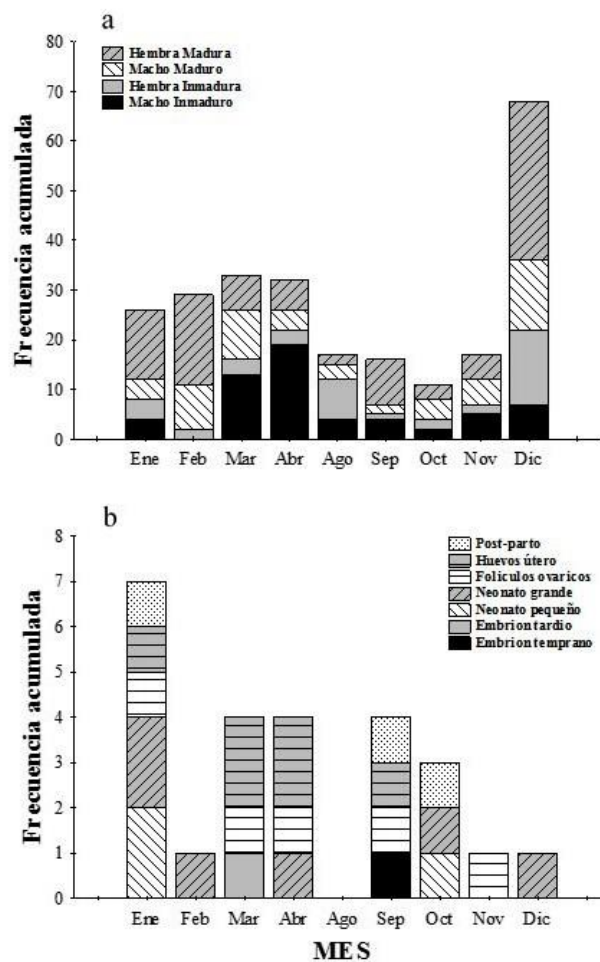
Respecto a la variación temporal, individuos inmaduros (0) se capturaron principalmente en los meses de marzo y abril; mientras los individuos maduros se capturaron principalmente en enero y febrero (Fig. 8a). Respecto a los estados de desarrollo ovárico, intrauterino y de vida libre, se encontró que en los meses de enero y octubre hubo presencia tanto de neonatos pequeños como grandes, meses en los cuales también hubo presencia de hembras postparto. Solo durante el mes de septiembre se encontraron embriones con desarrollo temprano, mes donde también se presentaron huevos en el útero, folículos ováricos de gran diámetro y hembras postparto.



También se encontraron embriones con desarrollo inicial en el mes de marzo, mes que presentó folículos ováricos grandes y huevos en el útero (Fig. 8c). Considerando lo anterior se podría plantear que en los primeros meses del año (enero, febrero, marzo y abril) sería el inicio de la gestación (por presencia de huevos en el útero y embriones en desarrollo inicial), siendo al final del año (septiembre y octubre) los nacimientos debido a la presencia de embriones a término, neonatos y hembras postparto. Lo anterior permite sugerir un periodo de gestación entre 8 a 10 meses. Sin embargo, es necesario información sobre los meses faltantes para lograr establecer el ciclo reproductivo de la especie.

## DISCUSION

Este constituye el primer estudio enfocado a conocer aspectos reproductivos de *S. corona*, una especie de tiburón martillo de importancia comercial en el Pacífico colombiano. La proporción sexual encontrada (1:1) sugiere que *S. corona* no presenta segregación sexual, lo cual puede deberse a que el área de pesca donde fueron capturados los individuos es muy amplia, abarcando zonas costera y oceánicas. Sin embargo, es pertinente realizar estudios en áreas más específicas de pesca, para corroborar que la especie no presenta segregación sexual, como si se ha reportado en otras



**Figura 8.** Frecuencia de captura por mes de individuos de *Sphyrna corona*, categorizados por **a)** Estado de madurez y sexo: hembra inmadura, hembra madura, macho inmaduro y macho maduro. **b)** Estados de desarrollo ovárico, intrauterino y en condiciones de vida libre: folículos ováricos, huevos en útero, embriones desarrollo temprano, embriones desarrollo tardío, neonatos pequeños, neonatos grandes y hembras en postparto.

especies de tiburones como *Centroscyllium coelolepis*, *Centrosphorus squamosus* (Moura *et al.* 2014), *Etmopterus spinax* (Porcu *et al.* 2014), *Mustelus henlei* (Clarke *et al.* 2014), y en especies de rayas como *Psammobatis extenta* (Braccini & Chiaramonte 2002), *Urotrygon rogersi* (Mejía-Falla *et al.* 2012), *Narcine bancroftii* (Moreno *et al.* 2010), entre otros. La proporción sexual de embriones fue también 1:1, y aunque se requiere de un tamaño de muestra mayor (hembras preñadas) para corroborarlo, esta condición es común en la mayoría de elasmobranquios (Mollet *et al.* 2000; Braccini *et al.* 2006; Cotton *et al.* 2014; Montealegre-Quijano *et al.* 2014; Rochowski *et al.* 2015).

La longitud total máxima reportada para *S. corona* es de 92 cm (Compagno 1995), siendo inferior al valor reportado para este estudio, donde se encontraron 25 individuos por encima de dicha talla, y encontrando hembras de 119,5 cm y machos de 111,5 cm Lt. Este nuevo registro de talla máxima es información importante acerca de la especie, la cual cuenta con escasos estudios. *S. corona* presentó dimorfismo sexual, con hembras presentando mayores tallas (Lt) y pesos que los machos. Esta es una condición común en tiburones (Kohler *et al.* 1995; Cortes 2002; Tovar-Ávila *et al.* 2007; Yigin & Ismen 2013) y rayas (Braccini & Chiaramonte 2002; Mejía-Falla *et al.* 2012), y se considera como una respuesta adaptativa al modo de reproducción vivíparo (Goodwin *et al.* 2002), dada la necesidad de las hembras de llevar embriones en sus úteros.

### **Escala de madurez macroscópica y microscópica**

En las hembras de elasmobranquios, los ovarios pueden ser pareados o simples (Hamlett & Koob 1999), y aunque, aparentemente, no existe una correlación entre esta simetría de los ovarios y el modo reproductivo, en la mayoría de las especies vivíparas predomina un solo ovario, siendo generalmente el ovario derecho, el principal generador de huevos en tiburones (Pratt 1988; Hamlett & Koob 1999; Maruska *et al.* 1996). Así mismo, Pratt (1988) plantea que los ovarios se encuentran directamente asociados con el órgano epigonal, describiendo dos tipos de asociaciones: el ovario interno, que se encuentra contenido dentro del órgano epigonal (y está presente en los Lamniformes), y el externo, el cual es soportado sobre la superficie plana del órgano epigonal o se encuentra suspendido desde el mesovárico (Lutten *et al.* 2005).

Al igual que lo reportado para *Prionace glauca* (Montealegre-Quijano *et al.* 2014), *S. lewini* (Schlernitzauer & Gilbert 1966; Chen *et al.* 1988; Bejarano-Álvarez 2007) y para *S. zygaena* (Bejarano-Álvarez *et al.* 2011), *S. corona* presenta un ovario simple de tipo externo, siendo el derecho funcional y el izquierdo vestigial o ausente.

La histología de los folículos ováricos ha sido estudiada en algunas especies de rayas (p.e. *Urobatis jamaicensis*, *Torpedo marmorata*, *Dasyatis longa*, *Potamotrygon magdalenae*; Hamlett *et al.* 1999; Prisco *et al.* 2002; López 2009; Pedreros 2012) y de tiburones (p.e. *Scyliorhinus canicula*, *Squalus acanthias*, *Sphyrna lewini*, *Carcharhinus falciformis*, *Etmopterus spinax*; Dodd & Dodd 1980; Tsang & Callard 1983; Soria 2003; Rego *et al.* 2013; Porcu *et al.* 2014). Estos estudios muestran que a medida que se presenta la foliculogénesis, la composición de la granulosa y la teca varían, los ovocitos aumentan su tamaño debido a la acumulación de vitelo, y se da formación de la zona pelúcida (que separa el ovocito de la pared folicular) y de la lámina basal (que separa la teca de la granulosa; Lutten *et al.* 2005). Así mismo, indican que los folículos en varios estados de desarrollo, los folículos atrésicos y los cuerpos lúteos están soportados en el tejido conectivo del estroma. Según Hamlett & Koob (1999) las atresias pueden presentarse en cualquier tamaño de ovocito, sin que esto signifique alguna disfunción, de hecho, algunos autores consideran que juegan un rol importante en la producción de hormonas (Dodd 1983). Los folículos atrésicos pueden ser hallados en los ovarios de la mayoría de los elasmobranquios maduros (Hamlett & Koob 1999), y han sido reportados en *Squalus acanthias* (Tsang & Callard 1987), *Mustelus canis* (TeWinkel 1972), *Carcharhinus isodon* (Castro 1993), *Etmopterus spinax* (Porcu *et al.* 2014), entre otros. Otra de las condiciones descritas es la presencia de cuerpos lúteos en los ovarios como resultado del proceso de expulsión del ovocito maduro (Lutten *et al.* 2005). Todo lo anterior concuerda con lo encontrado en los ovarios de *S. corona*, donde se observaron folículos primarios rodeados de una capa de células foliculares planas, la cual fue aumentando conforme se incrementaba el tamaño del ovocito; en los folículos previtelogénicos se evidenció la zona pelúcida, células cúbicas de la granulosa y formación de la lámina basal y de la teca; en los folículos vitelogénicos se evidenció la diferenciación de la teca interna y externa, al igual

que grandes cantidades de gránulos de vitelo. Así mismo, fue posible observar los folículos atrésicos y los cuerpos lúteos, principalmente en los ovarios de hembras preñadas y postparto.

El oviducto anterior tiene como función el transporte de los huevos, por lo que, cuando las hembras maduran, éste aumenta sus dimensiones para lograr el proceso de transporte (Hamlett & Koob 1999). En hembras de *S. corona* fue evidente el aumento en el tamaño de esta estructura a partir de 55,5 cm Lt, concordando con hembras maduras. A nivel histológico, el oviducto de algunas rayas como *Symperygia acuta* (Galíndez & Estecondo 2008), *Rhinobatos percellens* (Acero *et al.* 2008) y *Dasyatis bleekeri* (Chatchavalvanich & Visurripat 1997) se caracterizan por la presencia de pliegues longitudinales, y epitelio de revestimiento simple y columnar ciliado con células glandulares; y la submucosa es delgada, así como la capa longitudinal muscular. Sin embargo, al igual que *Narcine bancroftii*, *Dasyatis guttata* y *Urotrygon venezuelae* (Acero *et al.* 2008), el oviducto de *S. corona* presentó el epitelio de revestimiento columnar pseudoestratificado ciliado.

A nivel macroscópico, la glándula oviducal de *S. corona* presenta forma de corazón, tal como se ha descrito para otras especies vivíparas placentadas como *S. tiburo* (Schlernitzauer & Gilbert 1966), *S. zygaena*, *S. lewini* y *P. glauca* (Bejarano-Alvarez *et al.* 2011). Adicionalmente, se observó que la glándula de *S. corona* presentaba un aumento de tamaño ( $> 0,5$  cm, a partir de hembras de 55,5 cm Lt) que coincide con hembras maduras, principalmente preñadas, lo cual se ha encontrado en *S. tiburo* y algunos carcharhinidos como *Rhizoprionodon terraenovae*, donde la glándula incrementa su tamaño casi al doble debido a la presencia de huevos fértiles listos para ovular (Schlernitzauer & Gilbert 1966; Castro 1993; Wourms & Demski 1993). Hamlett *et al.* (1998) y Hamlett & Koob (1999), explican una correlación entre el tamaño de la glándula y el ciclo ovárico, lo cual podría explicar por qué las glándulas oviducal de *S. corona* tienen mayor tamaño en hembras preñadas.

La glándula oviducal se compone de tejido conectivo con vasos sanguíneos, túbulos secretores revestidos por un epitelio columnar simple, y de dos tipos de células, las ciliadas de núcleo apical y las secretoras de núcleo basal (Hamlett *et al.* 1998, 2002a; Galíndez &

Estecondo 2008; Galíndez *et al.* 2010; Serra-Pereira *et al.* 2011; Moura *et al.* 2011; Porcu *et al.* 2014). Así mismo, en la mayoría de los elasmobranquios, incluso con diferentes modos reproductivos, se distinguen cuatro zonas en la glándula oviducal: *club*, *papillary*, *baffle* y *terminal* (Hamlett *et al.* 2002a; Moura *et al.* 2011; Porcu *et al.* 2014), siendo esta última la responsable del almacenamiento de espermatozoides. En *S. corona*, aunque la distinción de las zonas no fue posible, se observó el epitelio formado por células con núcleo apical con superficie ciliada y células secretoras con núcleo basal. La presencia de masas densas de esperma almacenadas en el centro del lumen, tal como se ha reportado para *Iago omanensis* (Hamlett *et al.* 2002a), *S. lewini* (Pratt 1993; Bejarano-Álvarez *et al.* 2011), *S. zygaena* (Bejarano-Álvarez *et al.* 2011), *Mustelus antarcticus* (Storrie *et al.* 2008), *P. glauca* (Montealegre-Quijano *et al.* 2014) y *E. spinax* (Porcu *et al.* 2014) brinda evidencia que en *S. corona* la fecundación puede presentarse en las glándulas oviducal.

A nivel macroscópico se evidenció que los úteros de hembras preñadas de *S. corona* presentaban compartimientos uterinos, donde cada embrión se encontraba encapsulado y rodeado por la tercera membrana, lo cual es una característica presente en cinco familias de tiburones vivíparos placentados (Leptochariidae, Triakidae, Hemiglidae, Carcharhinidae y Sphyrnidae; Wourms *et al.* 1988). Según Schlernitzauer & Gilbert (1966), estos compartimientos se forman por la fusión de los pliegues dorsales y ventrales de la superficie interna de la pared uterina, la cual está formada por tejido conectivo, el cual permite dicha fusión. En *S. tiburo* las rugosidades de los compartimientos están orientadas transversalmente durante la gestación inicial, y a medida que ésta avanza, los compartimientos se acomodan longitudinalmente, y el útero se expande y sus paredes reducen su grosor (Schlernitzauer & Gilbert 1966). En este estudio, no se logró determinar la orientación de los compartimientos, pero si se evidenció que, a diferencia de *S. tiburo*, las paredes uterinas eran muy delgadas en hembras con embriones. Esta característica de embriones contenidos en compartimientos, ubican a *S. corona* como una especie útero-placentada con condición reproductiva IV según la clasificación de Otake (1990).

La tercera membrana observada dentro de las paredes uterinas de hembras de *S. corona*, ha sido también

observada en *S. tiburo* (Schlernitzauer & Gilbert 1966), *S. zygaena* y *S. lewini* (Bejarano-Álvarez *et al.* 2011). Según Hamlett & Koob (1999), esta tercera membrana es secretada por la glándula oviducal y recubre al embrión a medida que éste crece; así mismo, en tiburones placentados, todo el intercambio metabólico entre el útero y el embrión es efectuado a través de esta membrana.

El útero de las especies vivíparas placentadas, como *S. corona*, cuenta con un epitelio estratificado con varias capas cuboidales y cilíndricas, seguido de una red de capilares; después de ésta, se encuentran tres capas casi indistinguibles de tejido conectivo (la capa de músculo liso, una capa intermedia de fibras longitudinales y una capa externa delgada de fibras circulares); y finalmente se encuentra tejido conectivo (Schlernitzauer & Gilbert 1966; Otake 1990; Bejarano-Álvarez *et al.* 2011). En los úteros de las hembras de *S. corona*, fue posible observar el epitelio con células cúbicas, la capa muscular y el tejido conectivo; sin embargo, no fue posible la distinción de las tres capas de tejido conectivo.

Respecto a las estructuras reproductivas de los machos, los testículos de *S. corona* variaron de tamaño, encontrándose animales de diferentes tallas (p.e. 93,0 y 61,9 cm Lt) con testículos de igual tamaño (0,7 cm). Esto puede deberse a que el tamaño de los testículos se relaciona principalmente con la condición reproductiva del macho más que con su longitud total, tal como ha sido planteado por Dodd (1983) donde los machos aumentan su tamaño hasta representar en 4% de su peso total. A nivel histológico, los espermatocistos de los elasmobranquios están acomodados en orden consecutivo en el espacio, en una sola dimensión, según los estados sucesivos de desarrollo (Engel & Callard 2005). Según el patrón de formación de los testículos, Pratt (1988) los clasifica en diamétrico, compuesto y radial. Los testículos de *S. corona* tienen un desarrollo diamétrico, donde el desarrollo de los espermatocistos se da a través de lo ancho del testículo hacia los conductos deferentes. Este tipo de testículos es muy común en carcharhinidos y squalomorfos, y ha sido reportado en *P. glauca* (Pratt 1988), *S. tiburo* (Parsons & Grier 1992), *S. lewini* (Bejarano-Álvarez 2007) y *Mustelus schmitti* (Rojas 2013). Adicionalmente, las fases espermatogénicas presentes en los testículos de *S. corona* concuerdan con las siete fases registradas por Parsons & Grier (1992) y Rego *et al.* (2015); sin embargo, en este estudio se

reportó una fase final (8), donde se evidencia el proceso de degeneración y absorción, reportada por Maruska *et al.* (1996) para *Dasyatis sabina* y Rojas (2013) para *M. schmitti*.

Jones & Lin (1993) describen la estructura histológica del epidídimo y del conducto deferente de *Heterodontus portusjacksoni*, como una estructura rodeada por un epitelio columnar ciliado simple, con presencia de espermatozoides en machos maduros. En *S. corona* el epitelio de estas estructuras es pseudoestratificado, al igual que en *S. lewini* (Soria 2003; Bejarano-Álvarez 2007). En este caso valdría la pena evaluar si el epitelio del epidídimo y conducto deferente es común para el género *Sphyrna* o si realmente el epitelio varía entre géneros. Respecto a la presencia de espermatozoides en el epidídimo, estos se observaron muy abundantes en machos maduros en actividad sexual (estado IV); sin embargo, no fue posible establecer su tipo de agregación (espermátforo o espermatozeugmata), de acuerdo a lo descrito por Pratt & Tanaka (1994) para 14 especies de tiburones.

Según Hamlett *et al.* (2002b) el epitelio de la vesícula seminal es columnar simple ciliado o microvili. En *S. corona* no fue posible observar este tipo de epitelio, seguramente por la calidad del tejido y el grosor de los cortes realizados a esta estructura.

### Talla mínima y mediana de madurez

Las hembras presentaron un inicio de madurez al 46,4% del Lt máximo. Según Cortés (2000), los tiburones alcanzan la madurez sexual alrededor del 75% del Lt máximo, por lo que se podría considerar que *S. corona* alcanza su madurez sexual a una talla intermedia. La talla mediana de madurez de hembras fue muy similar a las obtenidas basadas en la condición del útero, glándula oviducal y ovario, indicando que cualquiera de estas estructuras puede ser usada para estimar la talla mediana de madurez. Sin embargo, el Lt50 basado en la condición del oviducto anterior fue muy alto (79,08 cm), debido posiblemente a que el oviducto refleja un mayor cambio sólo en hembras preñadas, siendo por tanto más un indicativo de preñez que de madurez; por lo cual no se recomienda basarse en esta estructura para establecer la talla mediana de madurez. De manera similar, los valores más altos (puntos de inflexión) obtenidos de la relación entre la Lt y el ancho del útero, de la glándula oviducal (92,7;

72,48 cm, respectivamente) puede deberse a que estas estructuras sufren grandes cambios principalmente en hembras en estado IV, indicando que estos puntos de inflexión se relacionan más con un inicio de preñez que con un inicio de madurez.

Los machos presentaron un inicio de madurez al 52% del Lt máximo, valor similar al encontrado para *S. lewini* (58%; Torres-Huerta 2008). Al igual que en las hembras, las tallas de inicio de madurez son intermedias. En los machos, la talla mediana de madurez fue muy similar a las obtenidas basadas en la condición del clasper, del testículo, del conducto deferente y de la vesícula, por lo que se podría considerar que los órganos reproductivos se desarrollan de manera sincrónica, y así, cualquiera de estas estructuras podría ser utilizada para establecer la talla de madurez en los machos de *S. corona*. Por otra parte, los puntos de inflexión de la relación Lt con la longitud del clasper y el ancho del conducto deferente, mayores al Lt50, puede estar relacionado con la Lt donde de la estructura está activa sexualmente (estado IV). De manera contraria, el valor más bajo (punto de inflexión) de la relación de Lt con el ancho del testículo (49,3 cm) podría deberse a un bajo número de muestras medidas de individuos inmaduros. Adicionalmente, se recomienda en estos casos, medir el largo del testículo, para obtener mayor información y lograr establecer qué medida es más recomendable usar para estimar madurez, tal como ha sido evaluado por Braccini & Chiaramonte (2002), Oddone *et al.* (2007), Mejía-Falla *et al.* (2012) y Baremore & Passerotti (2013).

### **Variación temporal de estados de madurez y de estados de desarrollo**

Al tener *S. corona* una talla de nacimiento menor al 20% de la longitud máxima alcanzada, lo hace susceptible a la depredación en los primeros estados de desarrollo, afectándose así la supervivencia de los neonatos (Branstetter 1990). En otros Sphyrnidos como *S. mokarran*, *S. lewini* y *S. zygaena*, las tallas de nacimientos están entre 13 y 15%; sin embargo, los adultos alcanzan tallas mayores a 300 cm, por lo que los adultos no se ven afectados por la depredación (Branstetter 1990); en el caso de *S. corona*, la talla máxima al igual que la talla de nacimiento son intermedias, por lo que la depredación podría afectar

tanto neonatos como adultos. Aunque en este estudio no se logró estimar la fecundidad debido a los escasos datos de hembra preñadas, se evidenció que es relativamente alta, e incluso superior a la reportada para la especie (2 crías por hembra, Compagno 1995). De esta forma, la talla de nacimiento intermedia de la especie, se podría compensar con una alta fecundidad, presentándose así un trueque entre estas características de historia de vida.

A partir de los datos de presencia de hembras preñadas, desarrollo de embriones, huevos en úteros y hembras postparto, se sugiere un periodo de gestación entre 8 a 10 meses para *S. corona*, periodo muy similar al de *S. lewini* reportado por Hazin *et al.* (2001). Respecto al ciclo reproductivo de la especie, se podría plantear un ciclo anual con vitelogénesis simultánea con la gestación, como lo presentan *S. tudes*, *S. lewini* y *S. tiburo* (Castro 2009). Sin embargo, este estudio contó con pocos datos de hembras preñadas y posparto, al igual que meses sin muestreo, por lo que es necesario información adicional de todos los meses y de todos los estados para corroborar el periodo de gestación y el ciclo reproductivo de la especie sugerido.

En conclusión, *S. corona* es una especie de talla media, madurez sexual intermedia, periodo de gestación medio, talla de nacimiento intermedia, fecundidad alta y ciclo reproductivo anual. Estas características llevan a considerarla como una especie con historia de vida cercana al intermedio entre r y k. Finalmente, este estudio aporta información valiosa sobre la historia de vida de la especie, en especial aspectos reproductivos, los cuales son necesarios y pertinentes para la evaluación demográfica y de vulnerabilidad de la misma a presiones antrópicas como la pesca.

### **AGRADECIMIENTOS**

A la Fundación SQUALUS y en especial a la bióloga Juliana López por su colaboración en el laboratorio, a los biólogos Diego Amariles y Luis A. Muñoz-Ororio por su apoyo en campo. Se agradece también al Doctor Yanis Cruz por la asesoría y guía en el análisis histológico. Las muestras de este estudio fueron colectadas por la Fundación SQUALUS, a través de proyectos de investigación financiados, parcialmente, por Conservación internacional y la Autoridad Nacional de Acuicultura y Pesca.

## LITERATURA CITADA

- Acero, A., Grijalba-Bendeck, M., Moreno, F., Acevedo, K. and González, E. (2008), "Histología comparada del sistema reproductivo de cuatro especies de rayas caribeñas (Chondrichthyes: Batoidea)", *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, Vol. 32, pp. 571-586.
- Bancroft, J. and Gamble, M. (2008), *Theory and practice of histological techniques*, 6th edition, Churchill Livingstone, London.
- Baremore, I.E. and Passerotti, M.S. (2013), "Reproduction of the Blacktip shark in the Gulf of Mexico", *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and ecosystem Science*, Vol. 5 No. 1, pp. 127-138.
- Bejarano-Álvarez, M. (2007) *Biología reproductiva del tiburón martillo Sphyrna lewini (Griffith y Smith, 1834) en salina cruz, Oaxaca, México*. Tesis Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Cicimar, La Paz, México.
- Bejarano-Álvarez, M., Galvan-Mangaña, F. and Ocho-Baez, R.I. (2011), "The reproductive biology of the scalloped hammerhead shark *Sphyrna lewini* (Chondrichthyes: Sphyrnidae) off south-west México", *Aqua, International Journal of Ichthyology*, Vol. 17 No. 1, pp. 11-22.
- Braccini, J.M. and Chiaramonte, G.E. (2002), "Reproductive biology of *Psammobatis extent*", *Journal of fish Biology*, Vol. 61, pp. 272-288.
- Braccini, J.M., Gillanders, B.M. and Walker, T.I. (2006), "Determining reproductive parameters for population assessments of chondrichthyan species with asynchronous ovulation and parturition: piked spurdog (*Squalus megalops*) as a case study", *Marine and Freshwater Research*, Vol. 57 No. 1, pp. 105-119.
- Branstetter, S. (1987), "Age, growth and reproductive biology of the silky shark, *Carcharhinus falciformis*, and the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini* from the northwestern Gulf of Mexico", *Environmental Biology of Fishes*, Vol. 19 No. 3, pp. 161-173.
- Branstetter, S. (1990), "Early life-history implications of selected carcharhinoid and Lamnoid sharks of the Northwest Atlantic", in Pratt, H.L., Gruber, S.H., Taniuchi, T. (Eds), *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries*, Vol. 90, pp. 17-28.
- Caldas, J.P., Castro-González, E., Puentes, V., Rueda, M., Lasso, C., Duarte, L.O., Grijalba-Bendeck, M., Gómez, F., Navia, A.F., Mejía-Falla, P.A., Bessudo, S., Díaz-Granados, M.C. and Zapata, L.A. (2010), *Plan de Acción Nacional para la Conservación y Manejo de Tiburones, Rayas y Quimeras de Colombia (PAN -Tiburones Colombia)*, Editorial Produmédicos, Bogotá.
- Castro, J.I. (1993), "The biology of the finetooth shark, *Carcharhinus isodon*", *Environmental Biology of Fishes*, Vol. 36 No. 3, pp. 219-232.
- Castro, J.I. (2009), "Observations on the reproductive cycles of some viviparous North American sharks", *Aqua international Journal of Ichthyology*, Vol. 15 No. 4-15, pp. 205-222.
- Chatchavalvanich, K. and Visuttipat, R. (1997), "Gross and microscopic structures of the female reproductive system in the whip-tail stingray (*Dasyatis bleekeri*)", *Thammasat International Journal of Science and Technology*, Vol. 2 No. 1, pp. 47-55.
- Chen, C.T., Leu, T.C. and Joung, S.J. (1988), "Notes on reproduction in scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, in northeastern Taiwan waters", *Fishery Bulletin*, Vol. 86 No. 2, pp. 389-393.
- Clarke, T.A. (1971), "The ecology of the scalloped hammerhead, *Sphyrna lewini*, in Hawaii", *Pacific Science*, Vol. 25 No. 2, pp. 133-144.
- Clarke, T.M., Espinoza, M. and Wehrmann, I.S. (2014), "Reproductive ecology of demersal elasmobranchs from a data-deficient fishery, Pacific of Costa Rica, Central America", *Fisheries Research*, Vol. 157, pp. 96-105.

- Compagno, L.J.V. (1984), FAO Species Catalogue: Sharks of the world, Part 2 - Carcharhiniformes. FAO *Fisheries Synopsis* Vol. 4 No. 125, pp. 251-633.
- Compagno, L.J.V. (1999), "Checklist of living elasmobranchs", in Hamlett, W.C. (Ed.), *Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes*, The John Hopkins University Press, Baltimore, pp. 471-500.
- Compagno, L.J.V., Krupp, F. and Schneider, W. (1995), "Tiburones", in Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K.E. and Niem, V.H. (Eds), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental*, FAO, Rome, Vol. 2 No. 1, pp. 648-743.
- Cortés, E. (2002), "Live history patterns and correlations in sharks", *Reviews in fisheries science*, Vol. 8 No. 4, pp. 299-344.
- Cotton, C.F., Grubbs, R.D., Dyb, J.E., Fossen, I. and Musick, J.A. (2014), "Reproduction and embryonic development in two species of squaliform sharks, *Centrophorus granulosus* and *Etmopterus princeps*: Evidence of matrotrophy?", *Deep Sea Research Topical Studies in Oceanography*, Vol. 2.
- Dodd, J.M. (1983), "Reproduction in Cartilaginous fishes (Chondrichthyes)" in Rankin, J.C., Pitcher, T.J. and Duggan, R.T. (Eds.), *Fish Physiology*, Academic Press, San Diego, Vol. 9, pp. 31-95.
- Dodd, M.H. and Dodd, J.M. (1980), "Ultrastructure of the ovarian follicle in the dogfish *Scyliorhinus canicula*", *General and comparative endocrinology*, Vol. 40.
- Engel, K.B. and Callard G.V. (2005), "The testis and spermatogenesis" in Hamlett, W.C. (Ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras*, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA, pp. 171-200.
- Galíndez, E.J. and Estecondo, S. (2008), "Histological remarks of the oviduct and the oviducal gland of *Sympterygia acuta* Garman, 1877", *Brazilian Journal of Biology*, Vol. 68 No. 2, pp. 359-365.
- Galíndez, E.J., Díaz-Andrade, M.C., Avaca, M.S. and Estecondo, S. (2010), "Morphological study of the oviducal gland in the smallnose fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae)", *Brazilian Journal of Biology*, Vol. 70 No. 2, pp. 325-333.
- Goodwin, N.B., Dulvy, M.K. and Reynolds, J.D. (2002), "Life-history correlates of the evolution of live bearing in fish", *Philosophical transactions of the royal society B: Biological Sciences*, Vol. 357, pp. 259-267.
- Hamlett, W.C. and Koob, T. (1999), "Female reproductive system" in Hamlett, W.C. (Ed.), *Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes*, The John Hopkins University Press, Baltimore, pp. 398-443.
- Hamlett, W.C., Jezior, M. and Spieler, R. (1999), "Ultrastructural analysis of folliculogenesis in the ovary of the yellow spotted stingray *Urolophus hannah*", *Anatomischer Anzeiger*, Vol. 181 No. 2, pp. 159-172.
- Hamlett, W.C., Knight, D.P., Koob, T.J., Jezior, M., Loung, T., Rozycki, T., Brunette, N. and Hysell, M.K. (1998), "Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs", *Journal of Experimental Zoology*, Vol. 282 No. 4-5, pp. 399-420.
- Hamlett, W.C., Fishelson, L., Baranes, A., Hysell, C.K. and Sever, D.M. (2002a), "Ultrastructural analysis of the oviducal gland and sperm storage in the Oman shark, *Iago omanensis*", *Marine and Freshwater Research*, Vol. 53, pp. 601-613.
- Hamlett, W.C., Reardon, M., Clark, J. and Walker, T.I. (2002b), "Ultrastructure of sperm storage and male genital ducts in a male holocephalan, the elephant fish, *Callorhynchus milii*", *Journal of Experimental Zoology*, Vol. 292 No. 2, pp. 111-128.

- Hamlett, W.C., Knight, D.P., Pereira, F.T.V., Steele, J. and Sever, D.M. (2005), "Oviducal Glands in Chondrichthyans", in Hamlett, W.C. (Ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras*, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, pp. 301 – 335.
- Hazin, F.H.V., Fischer, A.F. and Broadhurst, M.K. (2001), "Aspects of Reproductive Biology of the Scalloped Hammerhead Shark, *Sphyrna lewini*, off Northeastern Brazil", *Environmental Biology of Fishes*, Vol. 61 No. 2, pp. 151-159.
- Hleap, J.S., Bessudo, S. Lara, G. and Soler, G. (2011), "Familia Sphyrnidae", in *Guía para la identificación de especies de tiburones rayas y quimeras de Colombia*, Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible; Corporación para el desarrollo sostenible del Archipiélago de San Andrés, Providencia y Santa Catalina, Fundacion Squalus, Bogotá D.C., Colombia, pp.158
- Holland, K.N., Wetherbee, B.M., Peterson, J.D. and Lowe, C.G. (1993), "Movements and distribution of hammerhead shark pups on their natal grounds", *Copeia*, No. 2, pp. 495-502
- Jones, R.C. and Lin, M. (1993), "Structure and function of the genital ducts of the male Port Jackson shark, *Heterodontus portusjacksoni*", *Environmental Biology of Fishes*, Vol. 38, pp. 127-38.
- Jones, C.J.P., Walker, T.I., Bell, J. D., Reardon, M.B., Ambrosio, C.E., Almeida, A. and Hamlett, W.C. (2005), "Male genital ducts and copulatory appendages in chondrichthyans", in Hamlett, W.C. (Ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras*, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, USA, pp. 361-394.
- Joung, S.J. and Che-Tsung, C. (1995), "Reproduction in the sandbar, *Carcharhinus plumbeus*, in the waters off Northeastern Taiwan", *Copeia*, pp. 659–665.
- Kohler, N.E., Casey, J.G. and Turner, P.A. (1995), "Length-weight relationships for 13 species of sharks from the western North Atlantic", *Fishery Bulletin*, Vol. 93 No. 2, pp. 412-418.
- Liu, K.M., Chen, C.T., Liao, T.H. and Joung, S.J. (1999), "Age, growth, and reproduction of the pelagic thresher shark, *Alopias pelagicus* in the northwestern Pacific", *Copeia*, pp. 68–74.
- López, J. (2009) *Aspectos biológicos de la raya látigo Dasyatis longa (Pisces: Dasyatidae) de la zona central del Pacífico colombiano*. Tesis de pregrado, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.
- Lutton, B.V., George, J.S., Murrin, C.R., Filete, L.A. and Callard, I.P. (2005), "The elasmobranch ovary" in Hamlett, W.C. (Ed.), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras*, Science Publishers, Enfield, New Hampshire, pp. 237- 281.
- Maruska, K.P., Cowine, E.G. and Tricas, T. (1996), "Periodic gonadal activity and protracted mating in elasmobranch fishes". *The journal of experimental zoology*, Vol. 276, pp. 219-232.
- Mejía-Falla, P.A., Navia, A.F., Mejía-Ladino, L.M., Acero, A.P. and Rubio, E. (2007), "Tiburones y rayas de Colombia (Pisces Elasmobranchii): Lista actualizada, revisada y comentada", *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, Santa Marta, Colombia, Vol. 36, pp. 111-149.
- Mejía-Falla, P.A., Navia, A.F. and Cortés, E. (2012), "Reproductive variables of *Urotrygon rogersi* (Batoidea: Urotrygonidae): a species with a triannual reproductive cycle in the Eastern Tropical Pacific Ocean". *Journal of Fish Biology*, Vol. 80 No. 5, pp. 1246-1266.
- Mollet, H.F., Cliff, G., Pratt, H.L. and Stevens, J.D. (2000), "Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus paucus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of lamnoids", *Fishery Bulletin*, Vol. 98 No. 2, pp. 299-318.
- Montealegre-Quijano, S., Cardoso, A.T.C., Silva, R.Z., Kinas, P.G. and Vooren, C.M. (2014), "Sexual development, size at maturity, size at maternity and fecundity of the blue shark *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) in the Southwest Atlantic", *Fisheries Research*, Vol. 160, pp. 18-33.



- Moreno, F., Acevedo, K., Grijalba-Bendeck, M., Acero, A. and Paramo, J. (2010), "Reproducción de la raya eléctrica *Narcine bancroftii* (Torpediniformes: Narcinidae) en Santa Marta, Caribe colombiano", *Latin American Journal of Aquatic Research*, Vol. 38 No.1, pp. 27-36.
- Moura, T., Serra-Pereira, B., Gordo, L.S. and Figueiredo, I. (2011), "Sperm storage in males and females of the deepwater shark Portuguese dogfish with notes on oviducal gland microscopic organization", *Journal of Zoology*, Vol. 283 No. 3, pp. 210-220.
- Moura, T., Jones, E., Clarke, M.W., Cotton, C.F., Crozier, P., Daley, R.K., Diez, G., Dobby, H., Dyb, J.E., Fossen, I., Irvine, S.B., Jakobsdottir, K., Lopez-Abellan, L.J., Lorange, P., Pascual-Alayon, P., Severino, R.B. and Figueiredo, I. (2014), "Large-scale distribution of three deep-water squaloid sharks: Integrating data on sex, maturity and environment", *Fisheries Research*, Vol. 157, pp.47-61.
- Mycock, S.G. (SSG South America Regional Workshop, June 2003) 2004. *Sphyrna corona*. In: IUCN 2014. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.1. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 23 June 2014)).
- Oddone, M.C., Amarin, A.F., Mancini, P.L., Norbis, W. and Velasco, G. (2007), "The reproductive biology and cycle of *Rioraja agassizi* (Muller and Henle, 1841) (Chondrichthyes: Rajidae) in southeastern Brazil, SW Atlantic Ocean", *Scientia Marina*, Vol.71 No. 3, pp. 593-604.
- Otake, T. (1990), "Classification of reproductive modes in sharks with comments on female reproductive tissue and structures", in Pratt, H.L., Gruber, S.H., Taniuchi, T. (Eds), *Elasmobranchs as living resources: advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries*, Vol. 90, pp. 111-130.
- Parsons, G.R. (1993), "Geographic variation in reproduction between tow populations of *Sphyrna tiburo*", *Environmental Biology of Fisher*, Vol. 38, pp. 25-35.
- Parsons, G.R. and Grier H.J. (1992), "Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis", *Journal of Experimental Zoology*, Vol. 261, pp. 173-184.
- Pedrerros, T. (2012) *Madurez sexual de hembras de Potamotrygon magdalenae (Elasmobranchii: Potamotrygonidae) de la ciénaga de Paredes (Santander, Colombia)*. Tesis de pregrado, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Piner, K.R., Hamel, O.S., Menkel, J.L., Wallace, J.R. and Hutchinson, C.E. (2005), "Age validation of canary rockfish (*Sebastes pinniger*) from off the Oregon coast (USA) using the bomb radiocarbon method", *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 62, pp. 1060-1066.
- Porcu, C., Marongiu, M.F., Follesa, M.C., Bellodi, A., Mulas, A., Pesci, P. and Cau, A. (2014), "Reproductive aspects of the velvet belly *Etmopterus spinax* (Chondrichthyes: Etmopteridae), from the central western Mediterranean Sea. Notes on gametogenesis and oviducal gland microstructure", *Mediterranean Marine Science*, Vol. 15 No. 2, pp. 313-326.
- Pratt, H.L. (1988), "Elasmobranch gonad structure: a description and survey", *Copeia*, Vol. 3, pp. 719-729.
- Pratt, H.L. (1993), "The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks" in Wourms, J.P. and Demski, L.S (Eds.), *The reproduction and development of sharks, skates, rays and ratfishes*, Vol. 38 No. 1-3, pp. 139-149.
- Pratt, H.L. and Tanaka, S. (1994), "Sperm storage in male elasmobranchs: a description and survey", *Journal of Morphology*, Vol. 219 No. 3, pp. 297-308.
- Prisco, M., Leredana, R. and Piero, A. (2002), "Ultrastructural studies on the developing follicles of the spotted ray *Torpedo marmorata*", *Molecular reproduction and development*, Vol. 61 No. 1, pp. 78-86.
- Rego, M.G., Hazin, F.H.V., Neto, J.E., Oliveira, P.G.V., Soares, M.G., Torres, K.R.L.S., Lana, F.O., Roque, P.C.G., Santos, N.L. and Coelho, R. (2013), "Morphological analysis and description of the ovaries of female silky

- sharks, *Carcharhinus falciformis* (Muller & Henle, 1839)", *Neotropical Ichthyology*, Vol. 11 No. 4, pp. 815-819.
- Rego, M.G., Fitzpatrick, J., Hazin, F.H.V., Góes De Araújo, M.L., Da Silveira, L.M., Oliveira, P.G.V. and Evêncio-Neto, J. (2015), "Characterization of testicular morphology and spermatogenesis in the nurse sharks *Ginglymostoma cirratum* (Bonnaterre, 1788)", *Zoomorphology*, Vol. 134 No. 1, pp. 117-123.
- Rochowski, B.E.A., Graham, K.J., Day, R.W. and Walker, T.I. (2015), "Reproductive biology of the greeneye spurdog *Squalus chloroculus* (Squaliformes, Squalidae)", *Journal of fish biology*, Vol. No. pp.
- Rojas, F.O. (2013), "Testicular histology of *Mustelis schmitti* Springer, 1939 (Elasmobranchii, Triakidae)", *BioScriba*, Vol. 6 No. 1, pp. 16-32.
- Serra-Pereira, B., Afonso, F., Farias, I., Joyce, P., Ellis, M., Figueiredo, I. and Serrano, L. (2011), "The development of the oviducal gland in the Rajid thornback ray, *Raja clavata*", *Helgoland Marine Research*, Vol. 65 No. 3, pp. 399-411.
- Schlernitzauer, D. and Gilbert, P. (1966), "Placentation and Associated Aspects of Gestation in the Bonnethead Shark, *Sphyrna tiburo*", *Journal of Morphology*, Vol. 120 No. 3, pp. 219-232.
- Soria, A. (2003) *Descripción anatómica e histológica del sistema reproductor de juveniles de tiburón martillo Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 834). Tesis Maestría, Instituto Politécnico Nacional, Cicimar, La Paz, México.
- Storrie, M.T., Walker, T.I., Laurenson, L.J. and Hamlett W.C. (2008), "Microscopic organization of the sperm storage tubules in the oviducal gland of the female gummy shark (*Mustelus antarcticus*), with observations on sperm distribution and storage", *Journal of Morphology*, Vol. 269 No. 11, pp. 1308-1324.
- Tapiero, L. (1997) *Contribución al conocimiento de la biología y dinámica poblacional de Sphyrna lewini* (Pisces: Chondrichthyes) en el pacífico colombiano. Tesis de pregrado, Universidad del Valle, Santiago de Cali.
- Tewinkel, L.E. (1972), "Histological and histochemical studies of post-ovulatory and pre-ovulatory atretic follicles in *Mustelus canis*", *Journal of Morphology*, Vol. 136 No. 4, pp. 433-457.
- Torres-Huerta, A. M., Villavicencio-Garayzar, C. and Corro-Espinosa, D. (2008), "Biología reproductiva de la cornuda *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) (Sphyrnidae) en el Golfo de California", *Hidrobiología*, Vol. 18 No. 3, pp. 227-238.
- Tovar-Ávila, J., Walker, T.I. and Day, R.W. (2007), "Reproduction of *Heterodontus portusjacksoni* in Victoria, Australia: evidence of two populations and reproductive parameters for the eastern population", *Marine and freshwater research*, Vol. 58, pp. 956-965.
- Tsang, P.C.W. and Callard, I.P. (1983), "In vitro steroid production by ovarian granulosa cells of *Squalus acanthias*", *The biological bulletin*, Vol. 23, pp. 78-79.
- Tsang, P.C.W. and Callard, I.P. (1987), "Morphological and endocrine correlates of the reproductive cycle of the aplacental viviparous dogfish, *Squalus acanthias*", *General and Comparative Endocrinology*, Vol. 66 No. 2, pp. 182-189.
- Walker, T.I. (2004), "Elasmobranch Fisheries Management techniques", in Musick, J.A. and Bonfil, R. (Ed), *Elasmobranch fisheries management techniques*, APEC secretariat. Singapur, pp. 285-321
- Walker, T.I. (2005), "Reproduction in fisheries science" In Hamlett, W.C. (Ed), *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras*, Science Publishers, Enfield, USA, pp. 282-300.
- White, W.T., Bartron, C. and Potter, I.C. (2008), "Catch composition and reproductive biology of *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith) (Carcharhiniformes, Sphyrnidae) in Indonesian waters", *Journal of Fish Biology*, No.72, pp. 1675-1689.

- Wourms, J.P. and Demski, L.S. (1993), "The reproduction and development of sharks, skates, rays and ratfishes: introduction, history, overview, and future prospects", *Environmental Biology of Fishes*, Vol. 38 No. 1-3, pp. 7-21.
- Wourms, J.P., Grove, B.D. and Lombardi, J. L. (1988), "The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes" in Rankin, J.C., Pitcher, T.J. and Duggan, R.T. (Eds), *Fish Physiology*, Academic Press, San Diego, Vol. 11, pp. 1-134.
- Yigin, C.C. and Ismen, A. (2013), "Reproductive biology of spiny dogfish *Squalus acanthias*, in the North Aegean sea", *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, Vol. 13, pp. 169-177.